



การพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต
ซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรท์ และเซอโคเนียสำหรับประยุกต์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก

Development of porous scaffold based on β -tricalcium phosphate,
Zinc-Nickle ferrite, zirconia for bone tissue engineering application

นาย ปิยะพงษ์ ปานแก้ว

นางสาว ภัทริณี คลุ่มดวง

นาย เจริญพร ไชคบริบาล

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายจ่าย ประจำปีงบประมาณ ๒๕๖๐

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

บทคัดย่อไทย

ในงานวิจัยนี้ โครงร่างเล็ยงเซลล์คอมโพสิตเซรามิกแบบมีรูพรุนของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (B-HTCP) และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ ($Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$) สามารถถูกเตรียมได้อย่างง่ายโดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปแบบอัดแกนเดี่ยวรวมกับการซินเทอริงแบบปราศจากแรงดันเพื่อนำไปประยุกต์เป็นวัสดุทดแทนกระดูกในอนาคต

สัณฐานวิทยาของโครงร่างเล็ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ซึ่งได้จากผล SEM พบว่าขนาดเกรนมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ลักษณะโครงสร้างมีความพรุนมากขึ้นและมีการเชื่อมโยงกันดีขึ้นระหว่างรูพรุน เมื่อสัดส่วนผสมของซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ ในเมตริกเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น ลักษณะรูพรุนที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างจะเพิ่มพื้นผิวสัมผัสในการยึดเกาะของเซลล์ให้สูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตที่ดีของเซลล์

การศึกษาการตอบสนองทางชีวภาพของเซลล์กระดูกต่อโครงร่างเล็ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้นได้พบว่าโครงร่างเล็ยงเซลล์คอมโพสิตระหว่างเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ สูตร $Zn_{0.8}Ni_{0.2}Fe_2O_4$ มีการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกในปริมาณค่อนข้างเยอะในทุกสัดส่วนการผสม นอกจากนี้ยังมีการแผ่ตัวของเซลล์กระดูกไปในระนาบเดียวกับผิวชิ้นงานได้ดี มีการกระจายตัวของเซลล์กระดูกอย่างสม่ำเสมอบนพื้นผิวของชิ้นงานและแทรกซึมไปในช่องว่างได้ดี



Abstract

In this research, scaffolds of β -tricalcium phosphate (β -TCP) and zinc nickel ferrite ($Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$) were simply fabricated via the uniaxial pressing together with pressureless sintering, which can be tailored for specific applications.

The morphology of $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4/\beta$ -TCP scaffolds with all formulas obtained from the SEM result revealed the larger grains, the higher porosity and higher interconnectivity with increasing of $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ amount in β -TCP matrix. The high porous structure of the composite scaffold provided high surface area for cell attachment, indicative of good cell growth and differentiation.

Biological *in vitro* test using direct contact method with human cells revealed that the composite scaffold of β -TCP and $Zn_{0.8}Ni_{0.2}Fe_2O_4$ with all ratios induced the higher growth of Human osteoblast cells and the better cell spreading on surface of specimens



กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องมาจากความร่วมมือของผู้ร่วมวิจัยเป็นอย่างดีของนักวิจัยในโครงการ ได้แก่ ดร. ภัทริณี คลุมดวง และนายอนุวัฒน์ หัสดี นอกจากนี้ขอกราบขอบพระคุณ ดร. เจริญพร โชควริบาล ที่ช่วยในการวิเคราะห์ข้อมูลในงานวิจัยนี้ สุดท้าย ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา พี่น้อง ญาติและเพื่อนๆ ที่ให้กำลังใจจนกระทั่งงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	3
1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	4
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง	
2.1 วัสดุทางการแพทย์	5
2.1.1 ประวัติของวัสดุทางการแพทย์	5
2.1.2 คำจำกัดความและความหมาย	5
2.1.3 การประยุกต์ชีวเชิงกลให้เข้ากับวัสดุที่ใช้ฝังในร่างกาย	6
2.2 วัสดุชีวภาพการแพทย์ออร์โธปิดิกส์	6
2.3 วัสดุเซรามิกที่นำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์	8
2.4 สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต.....	9
2.5 นิกเกิล.....	11
2.6 เซอร์โคเนีย.....	12
2.7 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 การเตรียมสารประกอบแคลเซียมออกไซด์จากเปลือกไข่.....	15
3.2 การเตรียมเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต.....	17

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 การเตรียมซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์.....	19
3.4 การเตรียมโครงร่างเล็ยงเซลล์แบบรูปพูนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์.....	20
3.5 การศึกษาการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อผิวของโครงร่างเล็ยงเซลล์	21
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 สัณฐานวิทยาโครงร่างเล็ยงเซลล์แบบรูปพูนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์	22
4.2 ผลการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อโครงร่างเล็ยงเซลล์	24
บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัย.....	
รายการอ้างอิง.....	35
ประวัตินักวิจัย	38

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตในรูปแบบต่างๆ.....	11
ตารางที่ 3.1 สัญลักษณ์ของซิงก์-นิกเกิลเฟอโรไรต์สูตรต่างๆ.....	19



สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 3.1 การเตรียมผงเปลือกไข่ไก่.....	16
รูปที่ 3.2 รูปแบบการเลี้ยงเบนของรังสีเอกซ์ของผงเปลือกไข่ (a) ก่อนการแคลไซน์ และ (b) หลังการแคลไซน์ในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง.....	17
รูปที่ 3.3 รูปแบบการเลี้ยงเบนของรังสีเอกซ์ของผงเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (a) ก่อนการแคลไซน์ และ (b) หลังการแคลไซน์อุณหภูมิ 700 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง.....	18
รูปที่ 3.4 รูปแบบการเลี้ยงเบนของรังสีเอกซ์ของผงซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ สูตรต่างๆที่อุณหภูมิการแคลไซน์ 600 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	20
รูปที่ 4.1 สันฐานวิทยาของชิ้นงาน TCP-E05 สูตร (A, F) TCP-4%E05, (B, G) TCP-6%E05, (C, H) TCP-8%E05, (D, I) TCP-10%E05 และ (E, J) TCP-12%E05 ที่กำลังขยาย x 100 และ x1000 ตามลำดับ.....	23
รูปที่ 4.2 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E01, (B, G) TCP-6%E01, (C, H) TCP-8%E01, (D, I) TCP-10%E01 และ (E, J) TCP-12%E01 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	25
รูปที่ 4.3 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E02, (B, G) TCP-6%E02, (C, H) TCP-8%E02, (D, I) TCP-10%E02 และ (E, J) TCP-12%E02 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	26
รูปที่ 4.4 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E03, (B, G) TCP-6%E03, (C, H) TCP-8%E03, (D, I) TCP-10%E03 และ (E, J) TCP-12%E03 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	27
รูปที่ 4.5 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E04, (B, G) TCP-6%E04, (C, H) TCP-8%E04, (D, I) TCP-10%E04 และ (E, J) TCP-12%E04 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	28
รูปที่ 4.6 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E05, (B, G) TCP-6%E05, (C, H) TCP-8%E05, (D, I) TCP-10%E05 และ (E, J) TCP-12%E05 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	29
รูปที่ 4.7 สันฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E06, (B, G) TCP-6%E06, (C, H) TCP-8%E06, (D, I) TCP-10%E06 และ (E, J) TCP-12%E06 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	30

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.8 สัณฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E07, (B, G) TCP-6%E07, (C, H) TCP-8%E07, (D, I) TCP-10%E07 และ (E, J) TCP-12%E07 ที่กึ่งล้นขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	31
รูปที่ 4.9 สัณฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E08, (B, G) TCP-6%E08, (C, H) TCP-8%E08, (D, I) TCP-10%E08 และ (E, J) TCP-12%E08 ที่กึ่งล้นขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	32
รูปที่ 4.10 สัณฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E09, (B, G) TCP-6%E09, (C, H) TCP-8%E09, (D, I) TCP-10%E09 และ (E, J) TCP-12%E09 ที่กึ่งล้นขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ	33



บทที่ 1

บทนำ

เนื้อหาในบทนี้จะอธิบายถึงที่มาและความสำคัญว่ามีความเป็นมาอย่างไร มีวัตถุประสงค์อย่างไรบ้าง ขอบเขตรวมทั้งประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัยนี้

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การเกิดโรคและการบาดเจ็บอันเนื่องมาจาก โรคกระดูกพรุน โรคมะเร็งกระดูก หรือการบาดเจ็บจากสาเหตุอื่นๆ มีเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นสาเหตุสำคัญของการนำไปสู่ความเสียหายหรือการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อกระดูกในร่างกาย [1] วิธีการรักษาที่มักนำมาใช้คือ การปลูกถ่ายเนื้อเยื่อเข้าทดแทนบริเวณเนื้อเยื่อที่เสียหาย ซึ่งให้ผลการรักษาที่ดี แต่มีค่าใช้จ่ายสูง และอาจเกิดการติดเชื้อบริเวณที่ปลูกถ่าย การปฏิเสธสิ่งปลูกถ่าย รวมถึงอาจมีการขาดแคลนเนื้อเยื่อหรืออวัยวะสำหรับการปลูกถ่าย เป็นต้น ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงนำไปสู่การวิจัยและพัฒนาทางด้านวัสดุทดแทนกระดูก โดยการวิจัยและพัฒนาในยุคต้นจนถึงปัจจุบันนี้จะเน้นไปที่ การพัฒนาวัสดุชีวภาพที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อร่างกายและสามารถสร้างเนื้อเยื่อเกี่ยวพันเชื่อมโยงกับเนื้อเยื่อบริเวณข้างเคียงได้ แต่อย่างไรก็ตาม วัสดุชีวภาพเหล่านี้ก็ยังมีสมบัติเชิงหน้าที่ (functional- property) ยังไม่ดีพอเมื่อเทียบกับเนื้อเยื่อเดิมของร่างกาย

วิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก (bone tissue engineering) ถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของวิทยาการทางการแพทย์สมัยใหม่ ที่กำลังได้รับความสนใจอย่างยิ่ง โดยอาศัยการเกิดขึ้นใหม่ของเนื้อเยื่อภายในแม่แบบที่เรียกว่าโครงร่างเลี้ยงเซลล์ (cell scaffold) ที่มีลักษณะเป็นโครงร่าง 3 มิติ แบบมีรูพรุน (3D porous structure) [2] ซึ่งโครงร่างนี้จะถูกนำไปใช้เป็นแม่แบบสำหรับการเลี้ยงเซลล์ที่ถูกคัดแยกมาจากเนื้อเยื่อกระดูก โดยโครงร่างจะทำหน้าที่เป็นแม่แบบให้เซลล์เหล่านี้เกิดการยึดเกาะ การแบ่งเซลล์ และการเพิ่มจำนวนเซลล์จนมีปริมาณมากพอ ก่อนที่จะเกิดการชักนำให้เปลี่ยนแปลงไปเป็นเนื้อเยื่อกระดูกอย่างสมบูรณ์ จากนั้นจะนำไปปลูกถ่ายจริง ณ ตำแหน่งที่ได้รับความเสียหายเพื่อทดแทนเนื้อเยื่อกระดูกที่สูญเสียไป ดังนั้นการออกแบบโครงร่างเลี้ยงเซลล์ให้มีความเหมาะสมทางด้านกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งในการส่งเสริมพฤติกรรม การตอบสนองของเซลล์ต่อโครงร่างเลี้ยงเซลล์นี้ ทั้งนี้วัสดุชีวภาพ (biomaterial) ที่นำมาพัฒนาเป็นโครงร่างเลี้ยงเซลล์จะต้องมีสมบัติการเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตเป็นอย่างดี (biocompatibility) โดยสามารถรองรับการยึดเกาะและเจริญเติบโตของเซลล์ได้เป็นอย่างดี รวมทั้งต้องมีความแข็งแรงเหมาะสมกับตำแหน่งที่ปลูกถ่ายด้วย

ไฮดรอกซีอะพาไทต์ ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: HAp) เป็นวัสดุเซรามิกที่มีองค์ประกอบทางเคมีและโครงสร้างผลึกที่คล้ายคลึงกับสารอนินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบหลักของกระดูกและฟัน สามารถเข้า

กับเนื้อเยื่อของร่างกายมนุษย์ได้ดีมาก และสามารถสร้างเนื้อเยื่อใหม่มาเชื่อมต่อระหว่างกระดูกจริงกับ HAp ได้เองตามธรรมชาติ (Bioactivity) [3] ดังนั้น HAp จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างยิ่งในการพัฒนาเป็นโครงร่างเลี้ยงเซลล์ โดยแนวทางการพัฒนาในปัจจุบันจะเตรียมให้อยู่ในรูปแบบของโครงร่างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิต (composite scaffolds) ที่นำข้อดีของวัสดุแต่ละชนิดมาเสริมเข้าด้วยกัน งานวิจัยที่ผ่านมา [4-20] พบว่ามีการเตรียมคอมโพสิต HAp กับพอลิเมอร์ธรรมชาติ เช่น แอลจินเทไคโตซาน คอลลาเจน หรือ โปรตีนไหมไฟโบรอิน และคอมโพสิต HAp กับพอลิเมอร์สังเคราะห์ เช่น Poly (L-lactic acid), Poly (glycolic acid) หรือ Poly (DL-lactic-co-glycolic acid) ด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การชะล้างอนุภาค (particulate leaching) การทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) การทำให้เกิดโฟมด้วยแก๊ส (gas foaming) การประกอบตัวเอง (self-assembly) และการขึ้นรูปแบบหลอมเหลว (melt molding) เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตาม พอลิเมอร์สังเคราะห์เหล่านี้ มีการตอบสนองทางชีวภาพ (bioactivity) ที่ต่ำส่งผลให้มีการเกาะตัว การแบ่งตัว และการเพิ่มจำนวนของเซลล์บนโครงร่างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิตน้อย นอกจากนี้พอลิเมอร์ธรรมชาติที่นำมาคอมโพสิตโดยทั่วไปมีสมบัติเชิงกลที่ค่อนข้างต่ำและมักจะไม่มีความไม่สม่ำเสมอทางด้านโครงสร้างและองค์ประกอบ จึงอาจเกิดปัญหาในการผลิตซ้ำเพื่อให้ได้วัสดุที่มีสมบัติตามที่ต้องการได้

จากปัญหาดังกล่าวข้างต้น ทีมวิจัยจึงมีแนวทางการพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์ 3 มิติ แบบมีรูพรุนในรูปแบบเซรามิกคอมโพสิตของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (B-TCP) ซิงค์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์ ($Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$) และเซอร์โคเนีย (ZrO_2) โดยคาดหวังให้โครงร่างเลี้ยงเซลล์นี้มีสมบัติที่ดีทั้งในแง่ของความเข้ากันได้ทางชีวภาพ การส่งเสริมพฤติกรรมตอบสนองต่อเซลล์ที่ดี และสมบัติเชิงกลที่เหมาะสม

งานวิจัยนี้จะแบ่งขั้นตอนออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกจะเป็นการพัฒนาการเตรียมอนุภาค B-TCP และอนุภาค $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ โดยอนุภาค B-TCP ซึ่งเป็นสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตรูปแบบหนึ่งจะถูกสังเคราะห์ขึ้นเพื่อใช้เป็นวัสดุหลักในการพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์นี้ เนื่องจาก B-TCP มีสมบัติเด่นในการย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradability) ที่ดีกว่า HAp สามารถกระตุ้นให้เกิดเนื้อเยื่อกระดูกใหม่เข้าแทนที่ส่วนที่เกิดการย่อยสลายของ B-TCP ได้ [21] จึงเป็นวัสดุทางเลือกที่ดีสำหรับแนวทางการพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบย่อยสลายในอนาคตซึ่งจะทำให้ไม่เกิดการตกค้างของวัสดุในร่างกาย สำหรับวัสดุแม่เหล็กจะสังเคราะห์อยู่ในรูปของ $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ ซึ่งมีธาตุ Zn และ Ni เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างแม่เหล็กเฟอร์ไรต์ วัสดุแม่เหล็กนี้จะถูกนำมาเป็นวัสดุคอมโพสิตในโครงร่างเลี้ยงเซลล์ เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าวัสดุที่แสดงสมบัติความเป็นแม่เหล็กสามารถกระตุ้นการยึดเกาะ การกระจายตัว และการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์ให้ดีขึ้น [22] นอกจากนี้ยังมีการวิจัยพบว่า Zn สามารถกระตุ้นการสะสมแร่ธาตุในกระดูกให้มากขึ้น จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเนื้อเยื่อกระดูกใหม่มาทดแทนได้เร็ว [7] และ Ni จัดเป็นแร่ธาตุที่มีความ

จำเป็นต่อกระดูก และผิวหนังด้วย ดังนั้นอนุภาคแม่เหล็ก $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ ที่จะถูกสังเคราะห์ขึ้นในงานวิจัยนี้คาดหวังว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้อเยื่อกระดูกให้ดีขึ้น ในส่วนของ ZrO_2 เป็นเซรามิกที่มีความแข็งแรงสูง ทนต่อการสึกหรอ ทนต่อการกัดกร่อนของของเหลวในร่างกาย และมีความสามารถเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย [23] จึงถูกเลือกมาเป็นวัสดุเสริมแรงในการพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์ในงานวิจัยนี้ สำหรับตอนที่สอง จะพัฒนาการเตรียมโครงร่างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิตเซรามิกแบบมีรูพรุนของ B-TCP, $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ และ ZrO_2 และศึกษาผลของสัดส่วนการผสมระหว่าง B-TCP และ $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$ และ ZrO_2 ที่มีต่อสมบัติเชิงกล และพฤติกรรมการตอบสนองของเซลล์ต่อโครงร่างเลี้ยงเซลล์ที่สร้างขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อพัฒนาการขึ้นรูปโครงร่างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิต 3 มิติแบบมีรูพรุนของเซรามิกเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซิงค์-นิกเกิล เฟอร์ไรท์ และเซอโคเนีย ด้วยกระบวนการผสมเชิงกล การอัดแกนเดี่ยว และการเผาซินเทอริง

1.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. Santos และคณะ [4] ได้ศึกษาการเตรียมโครงร่างเลี้ยงเซลล์ β -TCP ด้วยวิธี 3D printing โดยผลการทดสอบการตอบสนองทางชีวภาพพบว่า โครงร่างเลี้ยงเซลล์นี้สามารถกระตุ้นการยึดเกาะของเซลล์ และการเจริญเติบโตของเซลล์ได้ดี นอกจากนี้ ระดับรูพรุนและการเชื่อมต่อของรูพรุนส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการส่งผ่านของสารอาหารได้ดีขึ้น
2. Yu และคณะ [5] ได้พัฒนาโครงสร้างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิตระหว่างระหว่างไฮดรอกซีอะพาไทต์และ ท่อนาโนคาร์บอน จากผลการทดสอบสภาพความเป็นแม่เหล็กพบว่า มีค่าการอิ่มตัวทางแม่เหล็ก (saturation magnetization) เท่ากับ 1.14 emug^{-1} โดยสมบัติความเป็นแม่เหล็กของโครงสร้างเลี้ยงเซลล์นี้มีประโยชน์ต่อ Growth Factor ที่สามารถกระตุ้นให้เซลล์มีการเพิ่มจำนวน การเจริญเติบโต และพัฒนาการของเซลล์ได้ รวมทั้งส่งผลต่อเซลล์ต้นกำเนิดด้วย นอกจากนี้ยังส่งเสริมให้โมเลกุลอื่น ๆ สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ง่ายขึ้น
3. Park และคณะ [6] ได้ศึกษาผลของสารที่ทำให้เกิดรูพรุนระหว่างอนุภาคเกลือและอนุภาคซูโครสในการขึ้นรูปโครงสร้างเลี้ยงเซลล์แบบมีรูพรุน ผลการวิจัยพบว่า การใช้ซูโครสเป็นสารทำให้เกิดรูพรุนในโครงสร้างเลี้ยงเซลล์ทำให้มีการเชื่อมต่อของรูพรุนและการแทรกซึมของเซลล์ที่ดีขึ้นกว่าการใช้อนุภาคเกลือเป็นสารทำให้เกิดรูพรุน
4. Gross และคณะ [7] พบว่า Zn สามารถกระตุ้นการเติบโตของกระดูกและการสะสมแร่ธาตุในกระดูก

- Keil และคณะ [8] ได้ศึกษาเปรียบเทียบสมบัติทางชีวภาพระหว่างเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (β -TCP) และไบฟราซิกแคลเซียมฟอสเฟต ผลการวิจัยพบว่า β -TCP แสดงระดับของ mRNA สำหรับกระบวนการสลายกระดูก (bone resorption) และกระบวนการเปลี่ยนเป็นเซลล์กระดูก (osteogenic differentiation)

1.4 ขอบเขตงานวิจัย

- เตรียมเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตจากปฏิกิริยาการตกตะกอน (precipitation method) โดยใช้เปลือกไข่ (CaCO_3) เป็นสารตั้งต้นของแคลเซียม, ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) เป็นสารตั้งต้นของฟอสฟอรัส และแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) เป็นตัวปรับความเป็นกรดต่างของสารละลาย
- เตรียมซิงค์-นิกเกิลเฟอร์ไรท์จากปฏิกิริยาสถานะของแข็ง (solid state reaction method) โดยใช้ ซิงค์ออกไซด์ (ZnO) นิกเกิลออกไซด์ (NiO) และ เหล็กออกไซด์ (Fe_2O_3) เป็นสารตั้งต้น
- ตรวจสอบพฤติกรรมของเซลล์โดย in vitro cell culture

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- ได้ต้นแบบโครงร่างเลี้ยงเซลล์คอมโพสิต 3 มิติแบบมีรูพรุนของเซรามิกเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซิงค์-นิกเกิล เฟอร์ไรท์ และเซอโคเนีย
- ได้แนวทางในการพัฒนาโครงร่างเซรามิก 3 มิติแบบมีรูพรุน สำหรับประยุกต์ใช้ทางด้านอื่นๆ
- สามารถสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่และกลุ่มวิจัยวัสดุที่มีความพร้อมในการบูรณาการความรู้ทางด้านต่างๆ

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในบทนี้จะกล่าวถึงการศึกษาทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องที่จะนำมาใช้ในการทำงานวิจัย โดยมีรายละเอียดต่อไปนี้

2.1 วัสดุทางการแพทย์

2.1.1 ประวัติของวัสดุทางการแพทย์

การใช้วัสดุต่างๆ เพื่อนำมาทดแทนอวัยวะในร่างกายที่ไม่สามารถทำหน้าที่ได้หรือสูญเสียไปนั้นได้เริ่มใช้กันมานานมาก นับตั้งแต่ที่เริ่มนำเทคโนโลยีมาใช้ทางการแพทย์ และเริ่มมีความรู้ทางเทคโนโลยีของวัสดุต่างๆ ประวัติการนำมาใช้ที่สำคัญได้แก่ การใช้โลหะเพื่อนำมายึดกระดูกที่หักให้ติดกันรวมทั้งนำโลหะหลายอย่างมาใช้ในศัลยกรรมดังต่อไปนี้

- เหล็ก ลวดที่จะทำจากเหล็กนั้นเป็นโลหะชนิดแรกที่ใช้ในการยึดกระดูกที่หัก
- ทองคำ โลหะชนิดนี้ได้ใช้ตั้งแต่ศตวรรษที่ 16 เพื่อซ่อมแซมภาวะเพดานโหว่ แพลตตินัม ใช้เป็นลวดโลหะที่ทำให้เกิดการระคายเคืองได้น้อยที่สุด เมื่อได้ทดลองในสุนัข
- เงิน ได้ใช้ลวดเงินเพื่อยึดติดกระดูกที่หักให้ติดกัน แม้ว่าโลหะชนิดนี้จะไม่เป็นพิษต่อร่างกาย แต่เนื่องจากมีความยืดหยุ่นได้น้อย จึงไม่นิยมใช้
- นิกเกิล ได้ถูกนำมาใช้ในฐานะที่เป็นโลหะสำหรับเคลือบโลหะที่ใช้ฝังในร่างกาย
- แมกนีเซียม ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นในการเร่งสร้างกระดูก

2.1.2 คำจำกัดความและความหมาย

คำที่จำเป็นต้องทราบนั้นมีอยู่ 2 คำ ซึ่งต้องแยกความหมายให้ชัดเจนคือคำว่า biomaterials และ biological materials คำว่า biomaterials นั้นมีความหมายว่า เป็นวัสดุอย่างหนึ่งอย่างใดที่นำเข้าไปฝังอยู่ในร่างกาย เพื่อทำหน้าที่เป็นอวัยวะเทียมหรือเพื่อการรักษาบางอย่าง หรือเรียกได้ว่าเป็น “วัสดุชีวภาพ” ส่วนคำว่า biological materials เป็นวัสดุที่เป็นเนื้อเยื่อของร่างกาย เรียกว่า “วัสดุทางชีววิทยา” วัสดุชีวภาพ (biomaterials) ได้ถูกจำกัดความหมายโดย Clemson Advisory Board ในการประชุมวัสดุชีวภาพนานาชาติครั้งที่ 6 (The Sixth Annual International Biomaterial Symposium) ว่า “A biomaterials is a systemically, Pharmacologically inert substance designed for implantation within or incorporation with living system” ซึ่งมีความหมายว่า เป็นวัสดุที่มีความเฉื่อยต่อเนื้อเยื่อของร่างกายทั่วไป รวมทั้งความเฉื่อยทางเภสัชวิทยาด้วย หมายความว่า ต้องไม่มีคุณสมบัติเป็นยา เมื่อนำวัสดุนั้นฝังเข้าไปในร่างกายหรือให้วัสดุนั้นไปสัมผัสเป็นส่วนใด

ส่วนหนึ่งของร่างกาย วัสดุชีวภาพนี้รวมถึงวัสดุที่ใช้ในทางทันตกรรมเพราะวัสดุดังกล่าวนี้ย่อมต้องสัมผัสเนื้อเยื่อในร่างกาย โดยมีโอกาสสัมผัสหรือซึมเข้าไปในเลือดได้ เนื่องจากว่าเป้าหมายของการใช้วัสดุชีวภาพคือ การทำให้เนื้อเยื่อตามธรรมชาติและอวัยวะต่างๆของร่างกายทำหน้าที่ขึ้นมาได้อย่างปกติ จึงมีความสำคัญมากที่ต้องเข้าใจความสัมพันธ์ระหว่างคุณสมบัติ หน้าที่ และโครงสร้างของวัสดุทางชีววิทยา (biological materials) ดังนั้นต้องศึกษาเรื่องใหญ่ๆ 3 เรื่องด้วยกัน คือ วัสดุทางชีววิทยา วัสดุที่ฝังเข้าไปในร่างกาย และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างวัสดุกับเนื้อเยื่อในร่างกายเรื่องที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่ต้องทำการศึกษาคือ สมบัติเชิงกลและไดนามิกของเนื้อเยื่อ และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างคุณสมบัติทั้งสอง โดยทั่วไปการศึกษานี้เรียกว่า biomechanics เพื่อที่จะนำไปใช้ออกแบบของวัสดุที่สอดใส่เข้าไปในร่างกาย

2.1.3 การประยุกต์ชีวเชิงกลให้เข้ากับวัสดุที่ใช้ฝังในร่างกาย

สมรรถภาพของวัสดุที่สอดใส่ไปนั้นจะต้องพิจารณาในด้านความเชื่อถือได้ เช่น มีปัจจัยที่สำคัญ 5 ประการ ที่เกี่ยวข้องกับการยึดติดของหัวกระดูกฟีมเมอร์ คือการแตกหัก การสึกหรอ การหลวม การหลุด และการติดเชื้อโรคความสำเร็จของวัสดุชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ 3 ประการ คือ คุณสมบัติและความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อของวัสดุที่ฝังเข้าไป ความทนของเนื้อเยื่อต่อวัสดุที่ฝังเข้าไปและผู้ที่ทำการฝังวัสดุนั้นรวมทั้งการติดตามการเปลี่ยนแปลงของวัสดุนั้นด้วยความต้องการคุณสมบัติของการฝังแผ่นโลหะ เพื่อทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของวัสดุนั้น

1. การยอมรับแผ่นโลหะโดยเนื้อเยื่อนั้นๆซึ่งหมายถึงความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อ (biocompatibility)
2. ต้องไม่มีพิษ และไม่ทำให้เกิดโรคมะเร็ง
3. มีความเฉื่อยทางเคมี และมีความทนทานด้วย
4. มีความแข็งแรงเชิงกลเพียงพอ
5. มีช่วงการทำงานพอก่อนที่จะเกิดการล้า
6. มีการออกแบบทางวิศวกรรมที่แข็งแรง
7. มีน้ำหนักและความหนาแน่นที่เหมาะสม
8. มีราคาค่อนข้างถูก สามารถสร้างได้ง่าย และเป็นจำนวนมาก

2.2 วัสดุชีวภาพการแพทย์ออร์โธปิดิกส์

วิวัฒนาการของวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์ ได้มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมากในตลอดระยะเวลา 20 ปีที่ผ่านมา ในยุคแรกของวัสดุนี้จะเป็นเรื่องของแบบพิมพ์ต่างๆ ทางด้านวิศวกรรม วัสดุที่ใช้คือโลหะไร้สนิม (stainless steel) แต่ในยุคปัจจุบันวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์มีมากถึงกว่า

40 ชนิดที่ผลิตเป็นวัสดุชีวภาพและเครื่องมือใช้ในผู้ป่วย วัสดุยุคแรกๆมีคุณลักษณะคือ ขอให้เป็นแค่เพียงวัสดุที่ใช้แล้วไม่เกิดปฏิกิริยาต่อต้านจากเนื้อเยื่อข้างเคียงก็เพียงพอ แต่ปัจจุบันสิ่งที่สำคัญยิ่งยวดคือ ต้องดูถึงปฏิกิริยาผิวสัมผัส (interfacial reaction) ระหว่างวัสดุที่ใช้กับอวัยวะข้างเคียงที่รองรับ ในอดีตวัสดุที่เคยใช้นั้น ขอเพียงให้อยู่คงทนได้นานแค่หลายปี ก็พอ แต่ปัจจุบันควรมีจุดมุ่งหมายที่จะสามารถใช้งานได้คงทนถึง 20 ปี ทั้งนี้เพื่อประโยชน์สูงสุดของผู้ป่วย ในยุคก่อนนี้การตรวจทดสอบวัสดุที่ใช้ในทางการแพทย์มีไม่มากนัก แต่ในปัจจุบันการที่จะได้มาซึ่งวัสดุใหม่ๆที่ใช้การได้ดีและมีประสิทธิภาพนั้น ต้องผ่านการทดสอบทั้งในแง่กลศาสตร์ ในสัตว์ทดลองและการทดสอบในแบบจำลองเหมือนอวัยวะของจริงในมนุษย์ เพื่อให้ได้มาซึ่งความแน่นอนว่าวัสดุนั้นมีพิษต่อร่างกายหรือเข้ากันได้ดีกับเนื้อเยื่อข้างเคียงหรือไม่ การศึกษาในห้องทดลองและจากร่างกายของผู้เสียชีวิตใหม่ๆ ในเรื่องของ การเปลี่ยนแปลงของผิววัสดุที่ใช้หรือการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อระหว่างผิววัสดุและอวัยวะที่รองรับช่วยให้เกิดความเข้าใจกระจ่างขึ้นเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและปฏิกิริยาของอวัยวะที่มีต่อวัสดุที่ใช้จุดประสงค์ของการใช้วัสดุทางการแพทย์ก็คือ ใช้ทดแทนส่วนอวัยวะและหรือทำหน้าที่ของอวัยวะที่เสียไป ในขณะที่เดียวกันต้องเป็นวิธีการที่ปลอดภัย เชื่อถือได้ ประหยัด และไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย การที่จะบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าวได้ก็ต้องขึ้นอยู่กับความมั่นคง ความคงทนถาวรของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น ระหว่างผิววัสดุที่ใช้กับอวัยวะที่รองรับ ต้องมีความเข้าใจว่าผิวสัมผัสของเนื้อเยื่อและวัสดุ (biomaterial-tissue interface) เปลี่ยนแปลงอยู่เสมอ ฉะนั้นต้องมีการศึกษาถึงความเปลี่ยนแปลงทั้งในแง่เคมีและเซลล์ที่เกิดขึ้นเมื่อนำวัสดุไปฝังแทนอวัยวะส่วนนั้นๆ เช่น จำเป็นต้องเรียนรู้เคมีพื้นผิว (surface chemistry) การสึกกร่อนของโลหะ (metal corrosion) ปฏิกิริยาต่อพอลิเมอร์ (polymer reaction) และพฤติกรรมพื้นผิวของเซรามิกและแก้ว (ceramic & glass surface behavior) ในปีหนึ่งๆจากตัวเลขที่ปรากฏ การใช้วัสดุทางการแพทย์ในอเมริกาและยุโรปมีรวมกันมีถึง 4-5 ล้านชิ้น ชิ้นส่วนจากวัสดุที่ต่างกันกว่า 40 ชนิดที่กำลังใช้อยู่ วัสดุทางการแพทย์สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดใหญ่ๆ โดยพิจารณาในแง่ของปฏิกิริยาเนื้อเยื่อโต้ตอบต่อการกระตุ้นที่ผิวสัมผัส (interfacial response)

ชนิดที่ 1 ปฏิกิริยาผิวสัมผัสเฉื่อย, พื้นผิวสัมผัสของวัสดุเรียบ (inert, smooth surface)

ชนิดที่ 2 ปฏิกิริยาผิวสัมผัสเฉื่อย, พื้นผิววัสดุมีรูพรุนเล็กๆ (inert, microporous surface)

ชนิดที่ 3 ปฏิกิริยาเคมีที่ผิวสัมผัสควบคุมได้ (controlled chemical reactive surface)

ชนิดที่ 4 ปฏิกิริยาดูดซึมที่ผิวสัมผัส (resorbable)

ชนิดที่ 1 ได้แก่ วัสดุทางการแพทย์ที่ใช้แพร่หลายในปัจจุบัน วัสดุในกลุ่มนี้สามารถเข้ากันได้ดีกับอวัยวะที่ยึดหรือทดแทนและเนื้อเยื่อข้างเคียง แต่อย่างไรก็ตามต้องเกิดมีปฏิกิริยาเนื้อเยื่อต่อวัสดุที่ใช้ โดยเกิดเป็นเนื้อเยื่อแผ่นบางๆ (fibrous capsule) หนา 0.1-10 μm ขึ้นเสมอโดยแทรกระหว่างวัสดุที่ใช้กับอวัยวะที่รองรับ ถึงแม้ว่าเนื้อเยื่อ ดังกล่าวจะแนบชิดติดกับวัสดุก็ตาม แต่ก็ไม่ได้ต่อกัน

สนิท จึงเกิดการเคลื่อนไหวยระหว่างตัววัสดุที่ใช้กับอวัยวะรองรับโดยเฉพาะเมื่อมีแรงมากระทำ ลักษณะเช่นนี้ทำให้ความคงทนถาวรของวัสดุที่ใช้มีขีดจำกัด ตัวอย่างเช่น แผ่นโลหะและสกรูยึดกระดูก

ชนิดที่ 2 เป็นวัสดุที่เกิดขึ้นจากการวิจัยเพื่อให้มีคุณภาพดีกว่าชนิดที่ 1 ในแง่ของความมั่นคงผิวสัมผัส (interfacial stability) วัสดุในกลุ่มนี้มีรูพรุนเป็นตะขாயที่กำหนดรูปแบบได้ (controlled network of porosity) ตรงบริเวณผิววัสดุเพื่อให้เนื้อเยื่อสามารถเจริญเติบโตเข้าไปในรูพรุนที่ผิววัสดุนี้ คล้ายกับเนื้อเยื่อบริเวณเชื่อมต่อระหว่างเอ็นและกระดูก หรือพันกับเนื้อเยื่อหุ้มเหงือก ตัวอย่างเช่น ข้อตะโพกเทียมชนิดผิวโลหะมีรูพรุน

ชนิดที่ 3 เป็นวัสดุที่วิจัยขึ้นเมื่อใช้แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาเคมี บริเวณผิววัสดุกับเนื้อเยื่อรองรับ ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นคือผิวสัมผัสจะประสานกันได้สนิทเหมือนธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น glass ceramics hydroxyapatite

ชนิดที่ 4 เป็นวัสดุทางการแพทย์เมื่อใช้แทนหรือฝังในอวัยวะของส่วนร่างกายนั้นๆ แล้วเมื่อถึงเวลาที่ทำหน้าที่ครบถ้วนสมบูรณ์แล้วจะเกิดการเสื่อมสลายสภาพของส่วนร่างกายนั้นๆ แล้วเมื่อถึงเวลาที่ทำหน้าที่ครบถ้วนสมบูรณ์แล้วจะเกิดการเสื่อมสลายสภาพของวัสดุและไม่ปรากฏร่องรอยของปฏิกิริยาระหว่างผิวพื้นวัสดุกับอวัยวะที่รองรับเลย วัสดุในกลุ่มนี้ถือว่าเป็นวัสดุที่ต้องการที่สุด แต่การผลิตทำได้ยากมาก และที่มีอยู่ในปัจจุบันก็มีน้อยชนิดมาก ตัวอย่างเช่น tricalcium phosphate ceramics วัสดุทางการแพทย์ทั้ง 4 ชนิดดังกล่าวไม่ว่าจะเป็นแบบใดก็ตาม เมื่อใช้ฝังหรือทดแทนอวัยวะในร่างกายแล้ว ปฏิกิริยาเนื้อเยื่อระหว่างวัสดุและอวัยวะที่รองรับจะเป็นแบบใดก็ตามขึ้นกับชนิดของวัสดุนั้นๆ วัสดุนั้นจะคงไว้ซึ่งคุณสมบัติประจำของตัวเองไว้ เพื่อทำหน้าที่ต่อไปในร่างกายให้นานเท่าานานที่จะเป็นไปได้ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์และคุณสมบัติของการใช้วัสดุทางการแพทย์ในวิชาโรคกระดูกและข้อ

2.3 วัสดุเซรามิกที่นำมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์

วัสดุเซรามิกที่เป็นที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ เช่น วัสดุคาร์บอน ได้ถูกนำมาใช้ทำเป็นลิ้นหัวใจเทียม สายนำที่สอดผ่านผิวหนังเข้าไปในร่างกาย (percutaneous lead) และในทางทันตกรรม (dentistry) วัสดุคาร์บอนนี้ถึงแม้ว่าจะมีสีดำ แต่ก็มีข้อดีหลายอย่างที่ถูกลีอกนำมาใช้ก็คือทำได้ง่ายและสามารถเข้ากับเนื้อเยื่อในร่างกายได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ยังได้มีการนำเอาอะลูมินา (alumina) มาใช้งานเกี่ยวกับกระดูกและข้อต่อเทียม เพราะเป็นวัสดุที่ทนต่อแรงกดได้มากและมีความแข็งแรงยิ่งยวด ในเรื่องของกระดูกและข้อต่อเทียมนี้ได้มีการพัฒนานำเอา ซิลิกอนไนไตรด์ (silicon nitride) มาใช้แทนอะลูมินา เพราะมีความแข็งแรงที่สูงกว่า เพราะน้อยกว่า และง่ายต่อการขึ้นรูปในแบบต่างๆ นอกจากนี้ยังมีไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) ที่มีรูพรุน ก็ได้ถูกนำมาใช้

เป็นวัสดุที่ฝังเข้าไปในร่างกาย ในกรณีที่กระดูกหักและสำหรับกระดูกใหม่ที่สร้างสอดแทรกมาตามรูพรุนของวัสดุนี้เป็นการยึดที่มั่นคง แต่เมื่อนำมาใช้ในงานจริงก็พบว่าวัสดุเซรามิกอาจจะเปราะและความแข็งแรงลดลงได้เมื่อถูกแช่ในน้ำเกลือหรือถูกฝังไว้ในเนื้อเยื่ออ่อน ตัวอย่างการนำเซรามิกมาประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์

1. อลูมินา (alumina, Al_2O_3) นำมาใช้เป็นกระดูกและข้อเทียม
2. ซิลิคอนไนไตรด์ (silicon nitride) นำมาใช้ในงาน turbine blade ที่มีอุณหภูมิสูง และถูกพิจารณานำมาใช้เป็นกระดูกและข้อเทียมเทียม เพราะมีความแข็งแรงกว่า เปราะน้อยกว่า และขึ้นรูปได้ง่ายกว่าอลูมินา
3. ซีโรเซียม (cerosium, ceramic-epoxy composite) ทำเป็นวัสดุที่มีรูพรุน เพื่อแก้ปัญหาที่เนื้อเยื่อจะไม่ยึดเกี่ยวกับวัสดุที่ฝัง โดยทำการทดลองในหนูและกระต่ายมาตั้งแต่ปี ค.ศ.1963 แล้วโดยฝังไว้ใต้ผิวหนัง ในกล้ามเนื้อละลายและข้อเข่านานมากกว่า 20 เดือน ไม่พบปฏิกิริยาตอบสนองของเนื้อเยื่อชนิดที่ว่า การอักเสบเฉพาะที่หรือมีแนวโน้มว่าจะเป็นก้อนตม แต่เนื้อเยื่อสามารถสอดแทรกเข้าไปยังรูพรุนได้ ต่อมา Harold Voris ได้รายงานการใช้ข้อมกระดูกกะโหลกศีรษะในคน ปรากฏว่าได้ผลดี ยึดติดได้ดี ไม่มีปฏิกิริยากับเนื้อเยื่อโดยรอบ
4. แคลเซียม อลูมิเนต (calcium aluminate, $CaO \cdot Al_2O_3$) ทำมาจากอลูมิเนียมออกไซด์ และแคลเซียมคาร์บอเนต กลุ่มที่คล้ายกัน ได้แก่ แคลเซียม ไททาเนต (calcium titanate, $CaO \cdot TiO_2$) และแคลเซียมเซอร์โคเนต (calcium Zirconate, $CaO \cdot ZrO_2$) นำมาสร้างเป็นวัสดุที่มีรูพรุน ซึ่งมีขนาดของรูพรุนต่างๆกันถึง 4 ระดับ ตั้งแต่ 45-200 ไมครอน
5. ไพโรไลติกคาร์บอน (pyrolytic carbon, omnicarbon) ใช้ทำลิ้นหัวใจเทียมที่มีข้อดีไม่ ต้องใช้สารกันเลือดแข็งตัว (anticoagulant) เคลือบอีก จากการทดสอบมีอายุการใช้งานมากกว่า 100 ปี
6. แบเรียมไททาเนต (barium titanate, $BaTiO_3$) และควอตซ์ (Quartz, SiO_2) มีคุณสมบัติเป็นเพียโซอิเล็กทริกกำลังได้รับการศึกษาเพื่อพิจารณาใช้อย่างกว้างขวาง เนื่องจากมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเนื้อเยื่อธรรมชาติ

2.4 สารประกอบแคลเซียมฟอสเฟต

แคลเซียมฟอสเฟต (calcium phosphate) เป็นแร่ธาตุที่มีน้ำหนักเบา มีความเสถียรทางเคมี และมีองค์ประกอบคล้ายกับเฟสที่เป็นแร่ธาตุในกระดูกจึงมักใช้ทำเป็นวัสดุสังเคราะห์ในรูปของกระดูกเทียม (artificial bone) สำหรับการฝังชนิดต่างๆ หรือสามารถใช้เป็นวัสดุพ่นสำหรับเคลือบ (porous coating) ลงไปบนวัสดุสำหรับการฝังชนิดอื่น ๆ ด้วยความที่องค์ประกอบของไอออนพื้นฐานของแคลเซียมฟอสเฟตสามารถพบได้ตามทั่วร่างกายของมนุษย์ ทำให้มีความเข้ากันได้กับร่างกาย

นั้นสูงมาก (high compatible) นอกจากนี้เซรามิกชีวภาพในกลุ่มแคลเซียมฟอสเฟตยังมีความคงทนต่อความเสียหายอันเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ (microbial attack), การเปลี่ยนแปลงค่า pH และสภาวะการเป็นตัวทำละลาย (solvent condition) สามารถอยู่ในรูปผลึกของเกลือได้หลากหลายชนิด เช่น ไฮดรอกซีอะพาไทต์ (hydroxyapatite) และเบต้าไวลอคโคท (β-whitlockite) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างแคลเซียมและฟอสเฟต (Ca:P ratio) การเข้าร่วมปฏิกิริยาของน้ำ สารเจือปน (impurities) และอุณหภูมิ (temperature) ในสภาวะที่มีน้ำเข้าร่วม (wet environment) และที่อุณหภูมิต่ำ (< 900 °C) แคลเซียมฟอสเฟตจะอยู่ในรูปของไฮดรอกซิล (hydroxyl-; OH) หรือไฮดรอกซีอะพาไทต์ ในขณะที่สภาวะที่ไม่มีน้ำเข้าร่วม (dry atmosphere) และที่อุณหภูมิสูง แคลเซียมฟอสเฟตจะอยู่ในรูปของเบตาไวลอคโคท แคลเซียมฟอสเฟตทั้งสองรูปนี้มีสมบัติที่สามารถความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อ (tissue compatible) ได้เป็นอย่างดีเยี่ยมและมักถูกนำมาใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูกในรูปของเม็ดหรือบล็อกของแข็ง (granular or solid block) ส่วนแคลเซียมฟอสเฟตชนิดอื่นๆที่นิยมนำไปประยุกต์ใช้ทางการแพทย์ ได้แก่ แอลฟาไตรแคลเซียมฟอสเฟต (α-tricalcium phosphate; α-TCP) ไบเฟสิกแคลเซียมฟอสเฟต (biphasic calcium phosphate; BCP) โมโนแคลเซียมฟอสเฟตโมโนไฮเดรต (monocalcium phosphate monohydrate; MCPM) และอะพาไทต์ที่ยังไม่ผ่านการบวมการเผาซินเตอร์ (unsinter apatite; AP) ตารางที่ 2.1 แสดงสมบัติทางกายภาพของแคลเซียมฟอสเฟตในรูปแบบต่างๆที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมทางการแพทย์ ซึ่งในการประยุกต์ใช้นั้นจะพิจารณาจากสมบัติการสลายหรือการดูดซึม (biodegradable or resorbable) และการสร้างพันธะกับเนื้อเยื่อ (bioactive or surface reactive) ของตัววัสดุเป็นหลัก ความนิยมในไฮดรอกซีอะพาไทต์เนื่องจากมีความเสถียรอย่างดียิ่งที่ pH สูงกว่า 4.3 ซึ่งในเลือดมีค่า pH 7.3 โดยปกติแคลเซียมฟอสเฟตเซรามิกทั่วไป (conventional calcium phosphate) จะมีความสามารถในการเผาซินเตอร์ (sinterability) ที่ต่ำมาก เนื่องจากว่ามีพื้นที่ผิวที่ต่ำ (~2-5 m²/g) นอกจากนี้ยังพบอีกว่าในกระบวนการดูดซึม (resorption process) ของแคลเซียมฟอสเฟตเซรามิก โดยทั่วไปจากกระบวนการสังเคราะห์ยังมีความแตกต่างจากแร่ธาตุในกระดูกอย่างสิ้นเชิง เพราะโดยทั่วไปแล้วแร่ธาตุในกระดูกจะมีขนาดในระดับนาโนเมตรและมีพื้นที่ผิวที่สูงมาก การเจริญของกระดูกจะอยู่ภายใต้เมทริกที่เป็นสารอินทรีย์มีพันธะระหว่างผลึกอย่างหลวมๆ จึงทำให้มีการดูดซึม โดยเซลล์ขนาดใหญ่ที่มีหน้าที่ทำลายหรือขจัดกระดูก (osteoclast) ที่สมบูรณ์และสม่ำเสมอ ดังนั้นแคลเซียมฟอสเฟตเซรามิกที่มีขนาดอนุภาคไมครอนจึงมีพื้นที่ผิวที่ต่ำ และพันธะระหว่างผลึกที่แข็งแรง กระบวนการดูดซึมสามารถแบ่งได้เป็น 2 ขั้นตอนคือการแตกสลายของอนุภาคและการแตกตัวของผลึก สมบัติทางกล (mechanical properties) ต่างๆของแคลเซียมฟอสเฟตสังเคราะห์นั้นจะมีค่าต่างๆกันไปตามตารางที่ 2.1 สาเหตุที่ทำให้สมบัติเชิงกลของผลึกเชิงซ้อนของแคลเซียมฟอสเฟตมีค่าต่างๆที่กว้างนั้นเนื่องมาจากมีโครงสร้างที่แตกต่างกันและเป็นผลมาจากกระบวนการเตรียมนอกจากนี้กระบวนการ

เผาในขั้นสุดท้ายนั้นยังส่งผลให้แคลเซียมฟอสเฟตนั้นสามารถออกมาอยู่ในรูปของแคลเซียมไฮดรอกซีอะพาไทต์หรือเบตาไวลอคโคไคท์ แต่ก็มีบางกรณีเมื่อเสร็จสิ้นทางกระบวนการแล้วอาจได้แคลเซียมฟอสเฟตทั้งสองโครงสร้างอยู่ภายในชิ้นงานเดียวกันข้อเสียหลักของแคลเซียมฟอสเฟตก็คือมีความแข็งแรงเชิงกลที่ต่ำ (poor mechanical strength) ภายใต้สภาวะความเค้น นั้นทำให้แคลเซียมฟอสเฟตสังเคราะห์ (อนุภาคขนาดไมครอน) มีสมบัติการสร้างพันธะกับเนื้อเยื่อที่ต่ำกว่ากระดูกตามธรรมชาติ เช่นเดียวกับเซรามิกชนิดอื่นๆ ความแข็งแรงเชิงดึง (tensile strength) และความแข็งแรงเชิงอัด (compressive strength) ของแคลเซียมฟอสเฟตจะถูกควบคุมโดยรูพรุน (pores) ช่องว่าง (voids) และช่องแคบเล็กๆ (interstices) ซึ่งทั้งหมดนี้เกิดขึ้นหลังจากการทำให้แน่นตัวโดยกระบวนการเผาซินเตอร์ เนื่องจากว่าเซรามิกแคลเซียมฟอสเฟตแตกต่างจากเซรามิกขั้นสูง (advance ceramics) ทำให้การเผาซินเตอร์นั้นกระทำได้อย่างจึงส่งผลให้สมบัติเชิงกลมีค่าต่ำ

ตารางที่ 2.1 สมบัติทางกายภาพของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตในรูปแบบต่างๆ

เฟส	โครงสร้างเคมี	อัตราส่วน Ca/P
Hydroxyapatite (HAp)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1.67
β - Tricalcium Phosphate	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1.5
Calcium deficient Hydroxyapatite	$\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{OH})_2$	1.5-1.67
Etracalcium Phosphate (TTCP)	$\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$	2

2.5 นิกเกิล

เป็นโลหะหนักที่พบได้ตามธรรมชาติเช่น ดินและฝุ่นจากภูเขาไฟ นิกเกิลมักจะถูกนำมาใช้งานทางด้านโลหะผสม เช่น เหมืองแร่ เครื่องประดับ โลหะไร้สนิม ส่วนนิกเกิลที่เป็นสารประกอบ (นิกเกิลออกไซด์ นิกเกิลซัลไฟด์ นิกเกิลคาร์บอนิลและโลหะนิกเกิล) มักมีการนำมาใช้ทางด้าน การชุบเคลือบทางไฟฟ้า สารให้สีในเซรามิก แบตเตอรี่ เป็นต้น

จากการวิจัยในหลายๆงานจะพบว่านิกเกิลเป็นธาตุชนิดหนึ่งที่เป็นพิษต่อร่างกายของมนุษย์ซึ่งสารประกอบของนิกเกิลแต่ละชนิดก็มีความรุนแรงของพิษที่ต่างกัน โดยนิกเกิลคาร์บอนิลมีความเป็นพิษมากกว่าสารประกอบของนิกเกิลที่ละลายน้ำได้ และสารประกอบนิกเกิลที่ละลายน้ำได้มีความเป็นพิษมากกว่าสารประกอบนิกเกิลที่ละลายน้ำไม่ได้ จากสารประกอบของนิกเกิลที่เรียกว่า นิกเกิลออกไซด์ จัดเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้น้อยจนแทบจะไม่ละลายน้ำเลยก็ว่าได้ เป็นกลุ่มที่มีความเป็นพิษน้อยที่สุด ได้ถูกเลือกนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ ถึงแม้ว่านิกเกิลจะมีความเป็นพิษต่อร่างกาย ความเป็นพิษจะมีผลกระทบบ่อยครั้งที่ได้รับนิกเกิลในปริมาณมากเท่านั้น นิกเกิลจากนั้นยังพบว่านิกเกิลเป็นแร่ธาตุอย่างหนึ่งที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มแร่ธาตุที่ร่างกายต้องการในปริมาณน้อย ซึ่งในชีวิตประจำวันสามารถพบนิกเกิลในอากาศ น้ำและอาหาร ในปริมาณที่ต่าง ๆ กัน อากาศในเมืองพบ

ประมาณ 0.00035 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ อากาศในชนบทพบประมาณ 0.00006 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ น้ำในเมืองพบประมาณ 2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ และในน้ำดื่มพบประมาณ 1.4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ และยังสามารถพบในร่างกายมนุษย์ในส่วนต่างๆ เช่น ปอด สมอง ตับอ่อน ไต กระจก ฟัน ต่อมหมวกไต เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามียูเรียใน RNA ด้วย ในคนไข้โรคมะเร็ง กล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และต่อมธัยรอยด์เป็นพิษ พบว่ามีนิเกิลเพิ่มมากขึ้นในเลือด แต่ในคนที่ขาดวิตามิน บี12 เป็นโรคตับแข็ง หรือเป็นโรคไต จะพบว่า มีนิเกิลในเลือดต่ำ นิเกิลทำหน้าที่คล้ายกับเป็นฮอร์โมนคือ ช่วยเร่งการหลั่ง prolactin-inhibiting factor ในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้ยังนิเกิลในอาหารยังช่วยในการดูดซึมเหล็กได้ด้วย อาหารพวกผักและถั่วเมล็ดต่างๆ เป็นแหล่งที่มาของนิเกิล ซึ่งร่างกายสามารถกำจัดออกได้ทางปัสสาวะและอุจจาระได้

2.6 เซอร์โคเนีย

เซอร์โคเนียที่เกิดตามธรรมชาติโดยทั่วไปจะพบอยู่ในรูปของแร่แบดเดิลไต์ (Baddeleyite) หรือเซอร์คอน (ZrSiO₄) ซึ่งการที่จะได้เซอร์โคเนียที่บริสุทธิ์นั้น จะต้องทำ การแยก สิ่งเจือปนที่ไม่ต้องการออก โดยผ่านกรรมวิธีการผลิตที่ซับซ้อนและทันสมัย เซอร์โคเนียบริสุทธิ์ที่ได้จะอยู่ในวัฏภาคแบบโมนอคลินิก (Monoclinic) ที่อุณหภูมิห้องและ จะเกิดการเปลี่ยนวัฏภาคเป็นเตตระโกนอล (Tetragonal Phase) และลูกบาศก์ (Cubic Phase) เมื่อมี การเปลี่ยนอุณหภูมิ ดังรูปที่ 2.12 ซึ่งผลของการเปลี่ยนโครงสร้างนี้ จะทำให้เกิดการ เปลี่ยนแปลงปริมาตรสูงถึง 3%-5% ซึ่งผลของการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวทำให้เราไม่สามารถใช้ ประโยชน์จากเซอร์โคเนียบริสุทธิ์ได้ (Stevens, R., 1986) แต่ผลของการเปลี่ยนแปลงปริมาตรดังกล่าวนี้ก็้เป็นจุดเด่นพิเศษของเซอร์โคเนียที่ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ โดยการเติมสารบางตัวที่เรียกว่าสารสร้างความเสถียร (Stabilizer) เมื่อเติมสารดังกล่าวแล้ว เซอร์โคเนียจะสามารถนำมาใช้งานที่อุณหภูมิห้องได้และยังเกิดสมบัติ พิเศษที่สา คัญประการหนึ่งคือ ความเหนียว

รูปแบบเสถียรของเซอร์โคเนีย

ดังที่ได้กล่าวในเบื้องต้นแล้วว่า เซอร์โคเนียไม่สามารถนำมาใช้งานได้ตามลา พังที่อุณหภูมิ ห้องจาเป็นที่จะต้องเติมสารสร้างความเสถียรบางตัวเข้าไป โดยสารที่นิยมใช้โดยทั่วไปได้แก่ แมกนีเซียมออกไซด์ (MgO) อิตเทียมออกไซด์ (Y₂O₃) แคลเซียมออกไซด์ (CaO) โดยสารดังกล่าวนี้จะทำให้เซอร์โคเนียสามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิห้องโดยจะไปทำให้โครงสร้างของเซอร์โคเนีย เสถียรในรูปเตตระโกนอลหรือลูกบาศก์ การเติมสารสร้างความเสถียรที่ต่างชนิดและปริมาณที่ ต่างกันจะทำให้ได้โครงสร้างจุลภาคที่ต่างกัน ซึ่งสามารถแบ่งลักษณะความต่างของโครงสร้าง จุลภาค ได้เป็น 3 ลักษณะคือ

1. Partially Stabilised Zirconia
2. Tetragonal Zirconia Polycrystal
3. Partially Stabilised Zirconia in a non Zirconia matrix

ซึ่งจากลักษณะของโครงสร้างจุลภาคที่ต่างกันจึงทำให้เกิดชื่อเรียกและสัญลักษณ์ของ เซอร์โคเนีย แตกต่างกันไปเช่น

- TZP Tetragonal Zirconia Polycrystal
- PSZ Partially Stabilised Zirconia
- FSZ Fully Stabilised Zirconia
- TTC Transformation Toughened Ceramics
- ZTA Zirconia Toughened Alumina
- TTZ Transformation Toughened Zirconia

Tetragonal Zirconia Polycrystal (TZP)

คือ เซอร์โคเนียที่เสถียรอยู่ในวัฏภาคเตตระโกนอลทั้งหมด โดยทั่วไปจะเกิดจากการใช้ Y_2O_3 เป็นสารสร้างความเสถียร หากพิจารณาแผนภูมิวัฏภาคในระบบ ZrO_2 - Y_2O_3 บริเวณ 0 mol%-5 mol% ของ Y_2O_3 จะพบว่าในช่วงอุณหภูมิประมาณ 1300°C ถึง 1650°C เซอร์โคเนีย จะอยู่ในวัฏภาคเตตระโกนอลเกือบ 100% ซึ่งหากทำให้เซอร์โคเนียที่อยู่ในสภาพดังกล่าวเย็น ตัวอย่างรวดเร็วมาที่อุณหภูมิห้อง จะได้เซอร์โคเนียที่อยู่ในรูปของ TZP

จากการศึกษาสมบัติระหว่างความแข็งแรงกับขนาดอนุภาคของ TZP พบว่าเมื่อขนาด ของอนุภาคใหญ่เกินกว่าขนาดวิกฤต (Critical Size) โครงสร้างเตตระโกนอลจะ สามารถเปลี่ยนวัฏภาคได้เองตามธรรมชาติ ซึ่งผลของการเปลี่ยนวัฏภาคนี้จะส่งผลให้ค่าความ แข็งแรงของวัสดุลดลง

2.7 ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ

ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) เป็นความสามารถของวัสดุที่มนุษย์พัฒนาขึ้น ที่คงอยู่ได้ภายในร่างกายสิ่งมีชีวิตในช่วงเวลาหนึ่ง โดยไม่ส่งผลกระทบต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตนั้น ๆ วัสดุทุกชนิดที่นำมาใช้เป็นวัสดุในทางการแพทย์นั้นล้วนแล้วแต่มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ แต่จะมีมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับประเภทการใช้งาน คำว่าความเข้ากันได้ทางชีวภาพจะครอบคลุมคุณสมบัติค่อนข้างกว้าง ซึ่งอธิบายได้ดังนี้

1. วัสดุสามารถมีพันธะยึดเกาะกัน โดยวัสดุจะต้องสามารถมีพันธะยึดเกาะกับส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย
2. วัสดุมีผลต่อการแบ่งตัวของเซลล์ ซึ่งจะทำให้เซลล์เจริญเติบโตผิดปกติ
3. วัสดุมีความเข้ากันได้เล็กน้อยหรือไม่มีเลย

ในการศึกษาไบโอเอกติวิตีของวัสดุ (การศึกษาความเข้ากันได้ของร่างกายมนุษย์) จะมีการศึกษาแยกเป็น 2 ส่วน คือ การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (*In vitro* study) และการศึกษาในสัตว์ทดลอง (*In vivo* study) ตามปกติต้องทำการศึกษาในห้องปฏิบัติการก่อน เพื่อเป็นการตรวจสอบเบื้องต้นก่อนการนำไปใช้ในสัตว์ทดลอง ซึ่งการศึกษาวัดในในห้องปฏิบัติการณ์มีหลักการดังนี้ นำวัสดุมาไว้ในสภาวะจำลองทางชีวภาพของร่างกายในช่วงระยะเวลาต่าง ๆ แล้วศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับวัสดุ ทั้งทางด้านเคมี ทางกายภาพ และโครงสร้างจุลภาค ทำให้ได้ข้อมูลเบื้องต้นว่าวัสดุอยู่ในประเภทใด (ค่อนข้างเฉื่อย ไบโอเอกทิฟ หรือละลายเมื่ออยู่ในร่างกาย) เพื่อที่จะช่วยในการทำนายผลที่จะเกิดขึ้นเมื่อนำมาทดสอบในสัตว์ หลังจากนั้นจึงจะนำวัสดุนั้น ๆ มาศึกษาในสัตว์ทดลอง เช่น หนู กระต่าย ลิง เป็นต้น โดยศึกษาในผลที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาสั้น ๆ และศึกษาผลในระยะยาว ผลการศึกษาเหล่านี้จะเป็นตัวช่วยในการตัดสินใจว่าวัสดุนั้น ๆ เหมาะสมกับการใช้งานประเภทใด



บทที่ 3

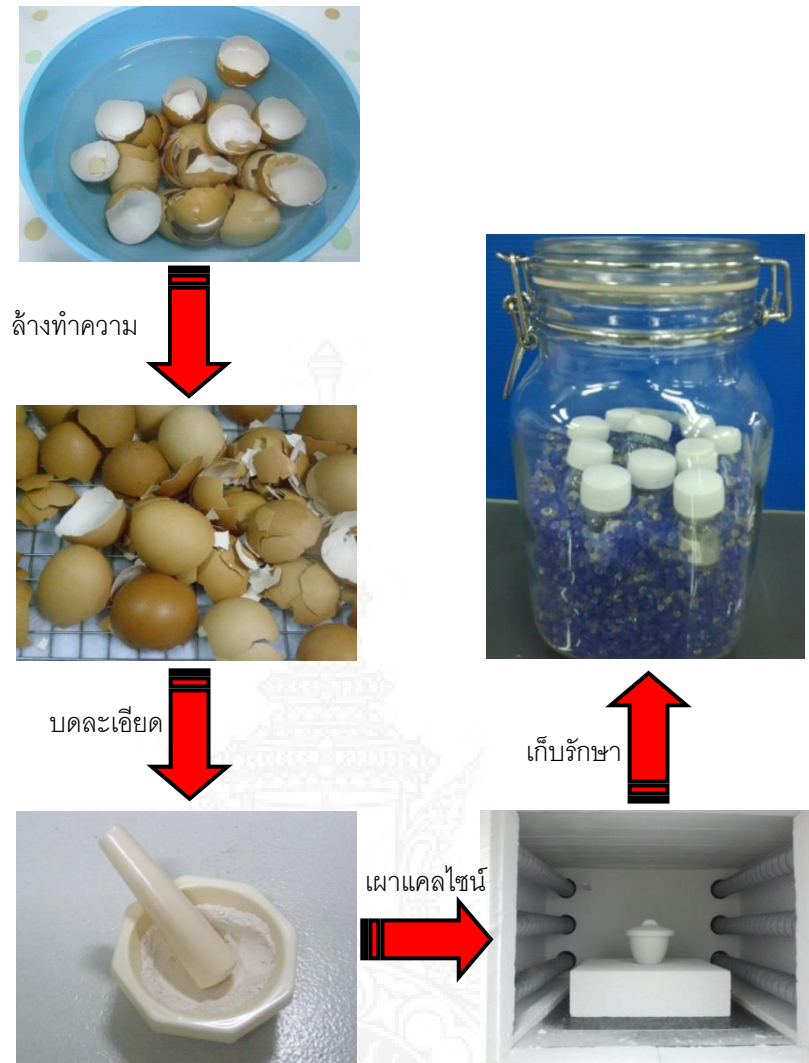
วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้วิจัยและพัฒนา วัสดุทดแทนกระดูกเพื่อเป็นแนวทางในการต่อยอดงานวิจัยในอนาคตโดยการพัฒนาโครงสร้างสองชั้น วิธีการทดลองได้แบ่งออกเป็น 5 ส่วน ส่วนที่ 1 การเตรียมสารประกอบแคลเซียมออกไซด์จากเปลือกไข่ ส่วนที่ 2 จะกล่าวถึงการเตรียมเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ส่วนที่ 3 การเตรียมซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ ส่วนที่ 4 การเตรียมโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ และส่วนสุดท้าย ส่วนที่ 5 การศึกษาการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อผิวของโครงร่างเลี้ยงเซลล์ โดยมีรายละเอียดดังนี้

3.1 การเตรียมสารประกอบแคลเซียมออกไซด์จากเปลือกไข่

การเตรียมผงเปลือกไข่เพื่อเป็นสารตั้งต้นของแคลเซียมในการสังเคราะห์อะพาไทต์มีขั้นตอนดังแสดงในรูปที่ 3.1 ดังนี้

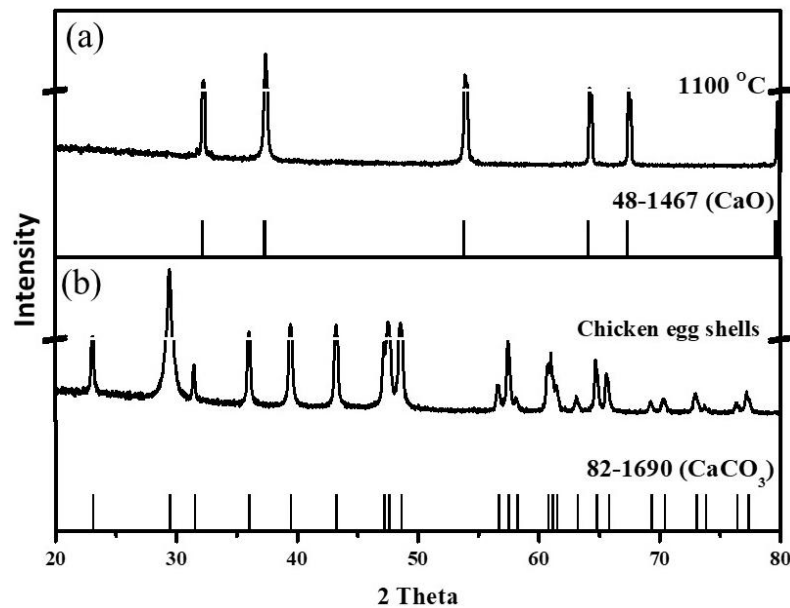
1. ทำความสะอาดเปลือกไข่ไก่ โดยการล้างน้ำและทำการลอกเยื่อที่ติดกับเปลือกไข่ไก่ออก แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้งเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ติดค้างออก
2. นำเปลือกไข่ไก่ไปตากให้แห้งและบดให้ละเอียด
3. นำผงเปลือกไข่ไก่ ไปเผาที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที
4. ปล่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วเก็บไว้ในโถกันความชื้น
5. นำตัวอย่างผงเปลือกไข่ไก่ที่เผาได้มาตรวจสอบโครงสร้างของผลึก ด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD)



รูป 3.1 การเตรียมผงเปลือกไข่ไก่

รูปแบบการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ของผงเปลือกไข่ไก่ก่อนเผาและหลังเผาที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง แสดงดังรูปที่ 3.2 โดยพบว่า โครงสร้างผลึกของเปลือกไข่ไก่เป็นสารประกอบแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) โดยมีโครงสร้างเฟสเป็น แคลไซต์ โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานอ้างอิงของแพ้ม Joint Committee on Powder Diffraction Standard (JCPDS) หมายเลข 12-1690 และเมื่อเผาที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส เฟสแคลไซต์หายไป และกลายเป็นเฟสแคลเซียมออกไซด์ (CaO) โดยเปรียบเทียบกับมาตรฐานอ้างอิงของแพ้ม JCPDS พบว่าตรงกับหมายเลข 48-1467 การเปลี่ยนแปลงนี้เป็นไปตามปฏิกิริยาดังสมการที่ 1 :

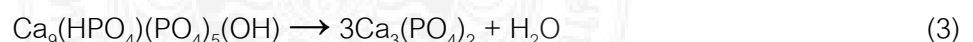
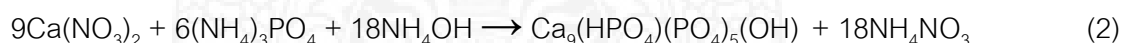




รูป 3.2 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงเปลือกไข่ (a) ก่อนการแคลไซน์ และ (b) หลังการแคลไซน์ในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 1100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

3.2 การเตรียมเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต

สังเคราะห์เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตจากปฏิกิริยาการตกตะกอน (precipitation method) โดยใช้เปลือกไข่เป็นสารตั้งต้นของแคลเซียมในรูป $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ เป็นสารตั้งต้นของฟอสฟอรัส และ NH_4OH เป็นตัวปรับความเป็นกรดต่างของสารละลาย เป็นไปตามสมการ

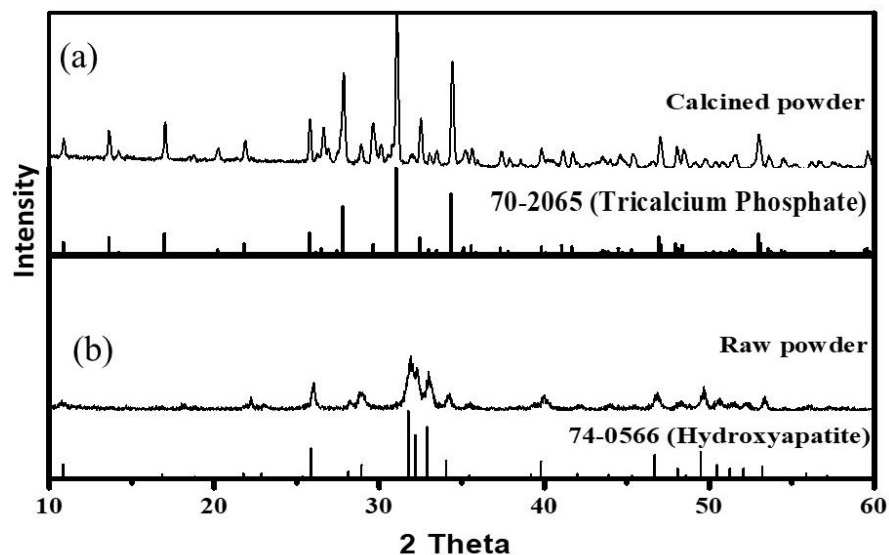


โดยที่ขั้นตอนดังนี้

1. เตรียมสารละลาย $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ เข้มข้น 0.9 โมลาร์ โดยนำผง CaO ละลายในกรด HNO_3 ที่มีความเข้มข้น 65 % แล้วปรับ pH ของสารละลายเป็น 9 ด้วยใช้สารละลาย NH_4OH
2. เตรียมสารละลาย $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ เข้มข้น 0.6 โมลาร์ โดยนำผง $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ละลายในน้ำ แล้วปรับ pH ของสารละลายเป็น 9 ด้วยใช้สารละลาย NH_4OH
3. นำสารละลาย $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ใส่ในบีกเกอร์ แล้วมาตั้งบนเครื่องกวนสารละลาย
4. นำสารละลาย $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ บรรจุในภาชนะที่ควบคุมการหยดได้ แล้วมาหยดใส่สารละลาย $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ โดยปรับอัตราการหยดเป็น 50 หยดต่อนาที
5. เมื่อสารละลาย $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ หยดหมด ทิ้งให้สารตกตะกอน เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

6. กรองตะกอน และทำการชะล้างด้วยน้ำสะอาด 5 ครั้ง
7. อบตะกอนให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
8. บดตะกอนให้เป็นผงละเอียด
9. นำผงเผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
10. ตรวจสอบโครงสร้างผลึกด้วย XRD

รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นก่อนและหลังเผาแคลไซต์แสดงเอกลักษณ์เฉพาะของผลึกแสดงดังรูปที่ 3.3 โดยพบว่า ก่อนเผาสารประกอบมีความเป็นผลึกน้อยและแสดงพีคเอกลักษณ์ของผลึกไฮดรอกซีอะพาไทต์ดรอกซีอะพาไทต์บริสุทธิ์ ที่ระนาบต่างๆ ได้แก่ ระนาบ (002), (102), (201), (211), (112), (300), (202), (130), (222), (132), (213), (321), (140), (402) และ (004) ซึ่งสอดคล้องตาม JCPDS file number 74-0566 จากการตรวจสอบสัดส่วนของ Ca/P ของสารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นพบว่า มีสัดส่วนเท่ากับ 1.5 ซึ่งเรียกโครงสร้างของสารประกอบนี้ว่า non stoichiometric HAp และเมื่อนำผงสารประกอบเผาแคลไซต์ที่อุณหภูมิ 700 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จะเกิดการเปลี่ยนโครงสร้างผลึกจาก non stoichiometric HAp เป็น เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต



รูปที่ 3.3 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (a) ก่อนการแคลไซต์ และ (b) หลังการแคลไซต์อุณหภูมิ 700 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

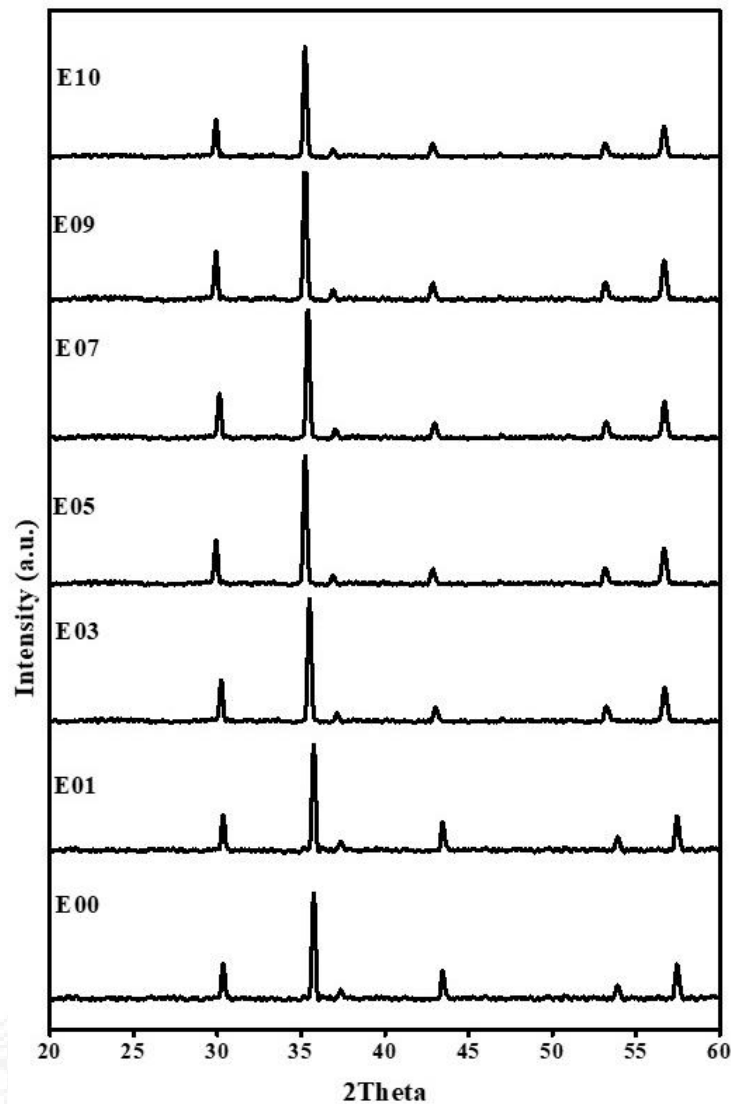
3.3 การเตรียมซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์

การเตรียมซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์ ($Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$; $x=0-1.0$) จะใช้วิธีการตกตะกอนทางเคมี โดยใช้ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, $Ni(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ และ $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ เป็นสารตั้งต้น โดยนำสารละลาย $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ ความเข้มข้น x โมลาร์ สารละลาย $Ni(CH_3COO)_2 \cdot 4H_2O$ ความเข้มข้น $1-x$ โมลาร์ และ $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ นำสารละลายทั้งหมดมาผสมกันที่อุณหภูมิ $85^\circ C$ และกวนสารละลายเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเติมสารละลาย $NaOH$ ความเข้มข้น 2 โมลาร์ หลังจากทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ก็ทำการกรองตะกอน แล้วนำตะกอนไปเผาแคลไซน์ที่อุณหภูมิ $600^\circ C$ องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาลักษณะเฉพาะของวัสดุที่เตรียมขึ้นด้วย X-ray diffraction (XRD) เพื่อตรวจสอบโครงสร้างผลึกของสารประกอบที่เตรียมขึ้น

ตารางที่ 3.1 สัญลักษณ์ของซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์สูตรต่างๆ

สูตร $Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$	สัญลักษณ์
$Zn_{0.1}Ni_{0.9}Fe_2O_4$	E01
$Zn_{0.2}Ni_{0.8}Fe_2O_4$	E02
$Zn_{0.3}Ni_{0.7}Fe_2O_4$	E03
$Zn_{0.4}Ni_{0.6}Fe_2O_4$	E04
$Zn_{0.5}Ni_{0.5}Fe_2O_4$	E05
$Zn_{0.6}Ni_{0.4}Fe_2O_4$	E06
$Zn_{0.7}Ni_{0.3}Fe_2O_4$	E07
$Zn_{0.8}Ni_{0.2}Fe_2O_4$	E08
$Zn_{0.9}Ni_{0.1}Fe_2O_4$	E09

จากรูปที่ 3.4 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์ที่เตรียมขึ้นโดยปฏิกิริยาการตกตะกอนทางเคมีที่ผ่านการแคลไซน์ที่อุณหภูมิ $600^\circ C$ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แสดงเอกลักษณ์เฉพาะของผลึกซิงค์เฟอร์ไรต์บริสุทธิ์และนิกเกิลเฟอร์ไรต์บริสุทธิ์ โดยทั้งสองเฟสนี้จะมีรูปแบบโครงสร้างที่เหมือนกัน แต่จะมีการเลื่อนของระนาบ โดยแสดงพีคเอกลักษณ์ของผลึกซิงค์เฟอร์ไรต์และนิกเกิลเฟอร์ไรต์ที่สำคัญบนระนาบต่างๆ ได้แก่ ระนาบ (220), (311), (222), (400), (422) และ (511) ความเป็นผลึกของซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์มีค่าสูง และรูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ไม่แสดงพีคอื่นๆ ที่แสดงโครงสร้างของสารประกอบอื่นๆ แสดงว่าผงซิงก์-นิกเกิลเฟอร์ไรต์ที่สังเคราะห์ขึ้น เป็นผลึกที่มีโครงสร้างบริสุทธิ์และไม่ที่สารประกอบอื่นปนเปื้อน



รูป 3.4 รูปแบบการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของผงซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ สูตรต่างๆ ที่อุณหภูมิการแคลไซน์ 600 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

3.4 การเตรียมโครงร่างเล็ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์

นำผงเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์แต่ละสูตรมาผสมกัน แล้วนำผงที่ผสมแล้ว เทใส่รวมกันกับอนุภาคซูโครส ในสัดส่วน 60:40 แล้วใส่ในโถ stainless steel vial ที่บรรจุลูกบอลอลูมินา ขนาด 10 มิลลิเมตร กำหนดสัดส่วนการผสมของผงกับลูกบอลเป็น 1:10 โดยทำการผสมในเครื่อง SPEX 8000-D mixer/mill เป็นเวลา 10 นาที เราจะศึกษาผลของสัดส่วนการผสมของผงเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ โดยกำหนดปริมาณการผสมซิงก์-นิกเกิลเฟอไรต์ของแต่ละสูตรที่สัดส่วน 4, 6, 8, 10 และ 12 wt% ของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต จากนั้นนำผงที่ผสมเสร็จสิ้นแล้วมาอัดขึ้นรูปแบบแกนเดี่ยว แล้วนำมาเผาขึ้นเทอริงที่อุณหภูมิ 1200 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.5 การศึกษาการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อผิวของโครงร่างเลี้ยงเซลล์

สำหรับการศึกษาการตอบสนองทางชีวภาพของเซลล์กระดูกต่อวัสดุ ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้วิธี Biological *in vitro* test using direct contact method with human cells โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้ เซลล์กระดูก (Human osteoblast cells; h-OBs) เมื่อสกัดเซลล์ได้จากเนื้อเยื่อกระดูกมนุษย์แล้ว จะนำเซลล์เหล่านั้นมาเพาะเลี้ยงในฟลาस्कที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ (culture flask) ที่มีอาหารเลี้ยงเซลล์อยู่ และจะถูกควบคุมในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งระหว่างการเพาะเลี้ยงจะเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ แบบวันเว้นวัน โดยจะเลี้ยงเซลล์จนกระทั่งเพิ่มจำนวนมากพอที่จะใช้ในการทดสอบ และเลี้ยงจนถึงรุ่นที่ 3 (3th passage) การเลี้ยงเซลล์บนผิววัสดุจะทำการทดสอบเป็นระยะเวลา 7 วัน และจะตรวจสอบลักษณะการยึดเกาะของเซลล์กับวัสดุ การเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนเซลล์บนวัสดุ โดยการวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) เพื่อประเมินผลการยึดเกาะและความสมบูรณ์ของเซลล์กระดูกที่นำมาทดสอบ

สำหรับการทดสอบการตอบสนองทางชีวภาพของเซลล์กระดูกต่อของโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ทุกสูตรที่สัดส่วน 4, 6, 8, 10 และ 12 wt% ของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต จะถูกกำหนดนิยามสัญลักษณ์ของแต่ละตัวอย่างดังตัวอย่าง เช่น TCP-4%E01 หมายถึง เบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ผสมกับซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์สูตร $Zn_{0.1}Ni_{0.9}Fe_2O_4$ ที่มีสัดส่วนของการผสม 4 wt% เป็นต้น

บทที่ 4

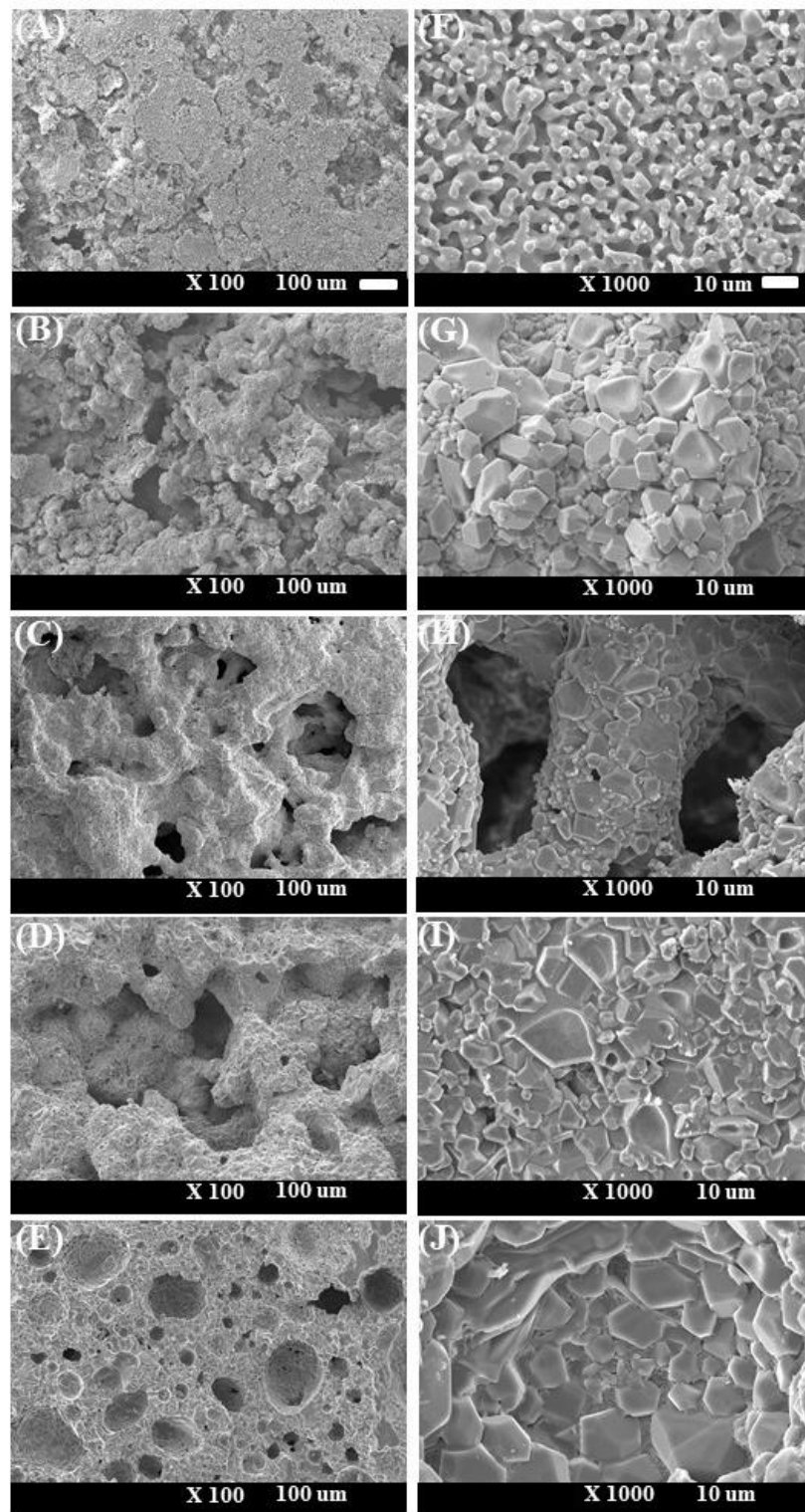
ผลการทดลอง

ผลการทดลองของงานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 สันฐานวิทยาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ และส่วนที่ 2 ผลการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ที่เตรียมขึ้น โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.1 สันฐานวิทยาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์

รูปที่ 4.1 แสดงสันฐานวิทยาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ สูตร (A, F) TCP-4%E05, (B, G) TCP-6%E05, (C, H) TCP-8%E05, (D, I) TCP-10%E05 และ (E, J) TCP-12%E05 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเมื่อสัดส่วนผสมของ E05 ในเมตริกเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ขนาดเกรนมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น นอกจากนั้นลักษณะโครงสร้างมีความพรุนมากขึ้นและมีการเชื่อมโยงกันดีระหว่างรูพรุน ซึ่งลักษณะรูพรุนที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างจะเป็นช่องทางในการส่งผ่านส่วนประกอบอินทรีย์ต่างๆ และเพิ่มพื้นผิวสัมผัสในการยึดเกาะของเซลล์ให้สูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตที่ดีของเซลล์

สำหรับสันฐานวิทยาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ สูตรอื่นๆ มีลักษณะคล้ายกัน

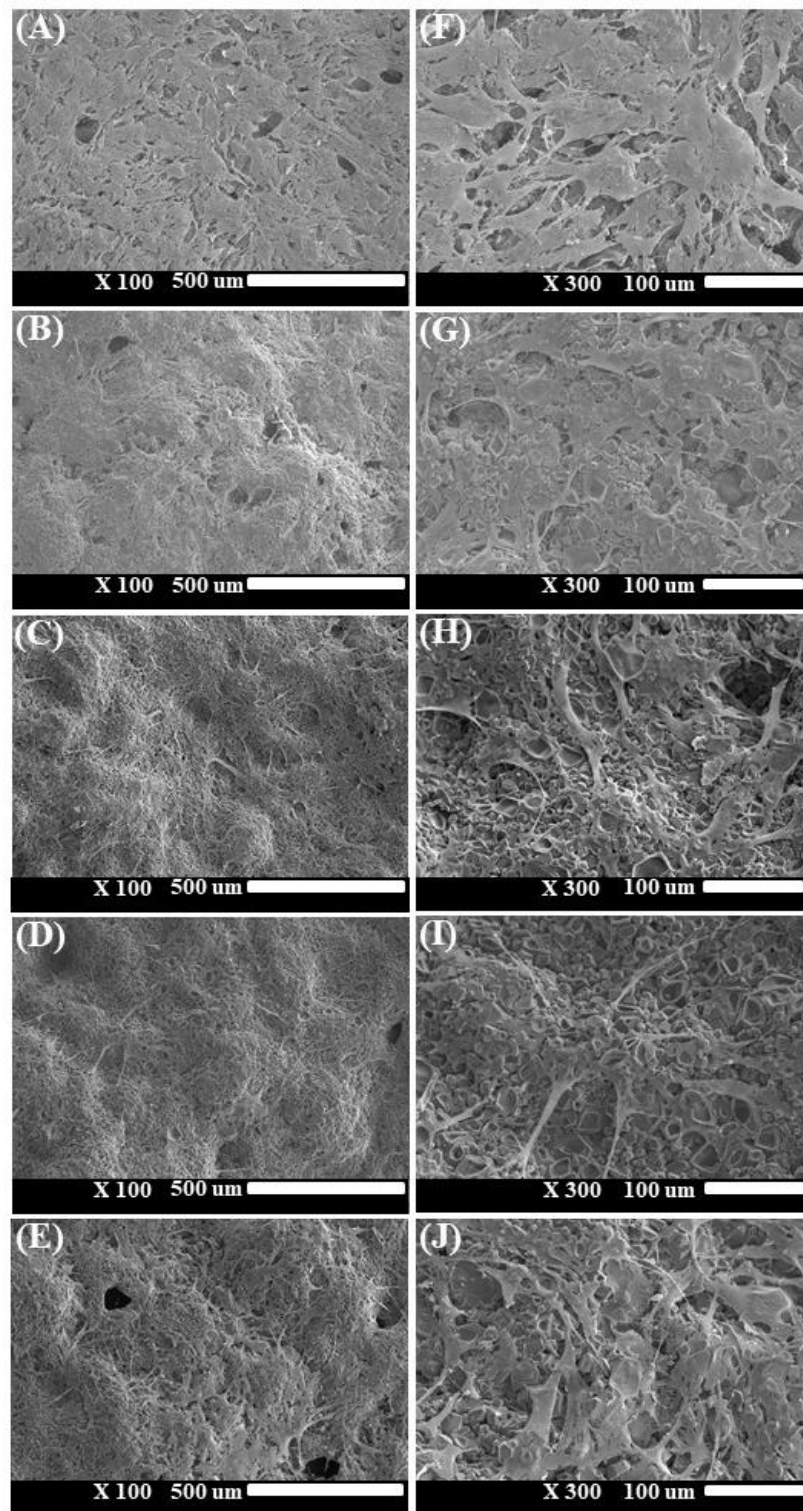


รูปที่ 4.1 สัณฐานวิทยาของชิ้นงาน TCP-E05 สูตร (A, F) TCP-4%E05, (B, G) TCP-6%E05, (C, H) TCP-8%E05, (D, I) TCP-10%E05 และ (E, J) TCP-12%E05 ที่กำลังขยาย $\times 100$ และ $\times 1000$ ตามลำดับ

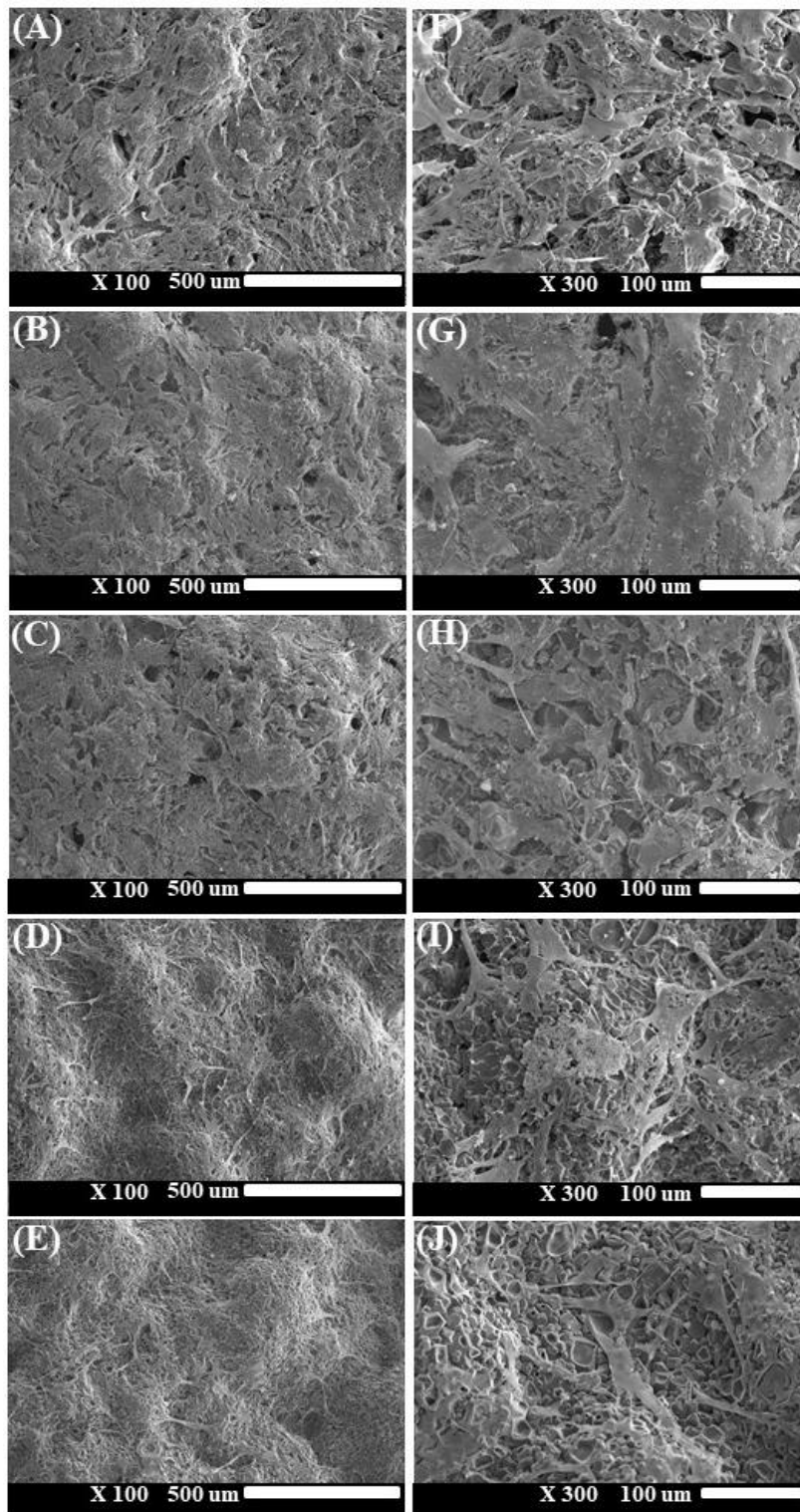
4.2 ผลการตอบสนองของเซลล์กระดูกต่อโครงร่างเลี้ยงเซลล์

รูปที่ 4.2-4.10 แสดงสัณฐานวิทยาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอโรไรท์ สูตรต่างๆ ซึ่งพบว่าเซลล์กระดูกสามารถยึดเกาะและเจริญเติบโตได้บนผิวชิ้นงานทั้งหมด โดยชิ้นงาน TCP-E01, TCP-E02, TCP-E03, TCP-E04, TCP-E05, TCP-E06, TCP-E07 และ TCP-E09 พบว่า เมื่อปริมาณ %E เพิ่มขึ้นจาก 8-12%wt ปริมาณเซลล์กระดูกมีแนวโน้มลดลง และเซลล์กระดูกมีการยึดเกาะและกระจายตัวในแต่ละบริเวณไม่สม่ำเสมอทั่วผิวชิ้นงานมากขึ้น สำหรับชิ้นงาน TCP-E08 พบว่าเซลล์กระดูกมีปริมาณค่อนข้างเยอะในทุกสูตร มีการแผ่ตัวของเซลล์กระดูกไปในระนาบเดียวกับผิวชิ้นงานได้ดี มีการกระจายตัวของเซลล์กระดูกอย่างสม่ำเสมอบนพื้นผิวของชิ้นงานและแทรกซึมไปในช่องว่างได้ดี

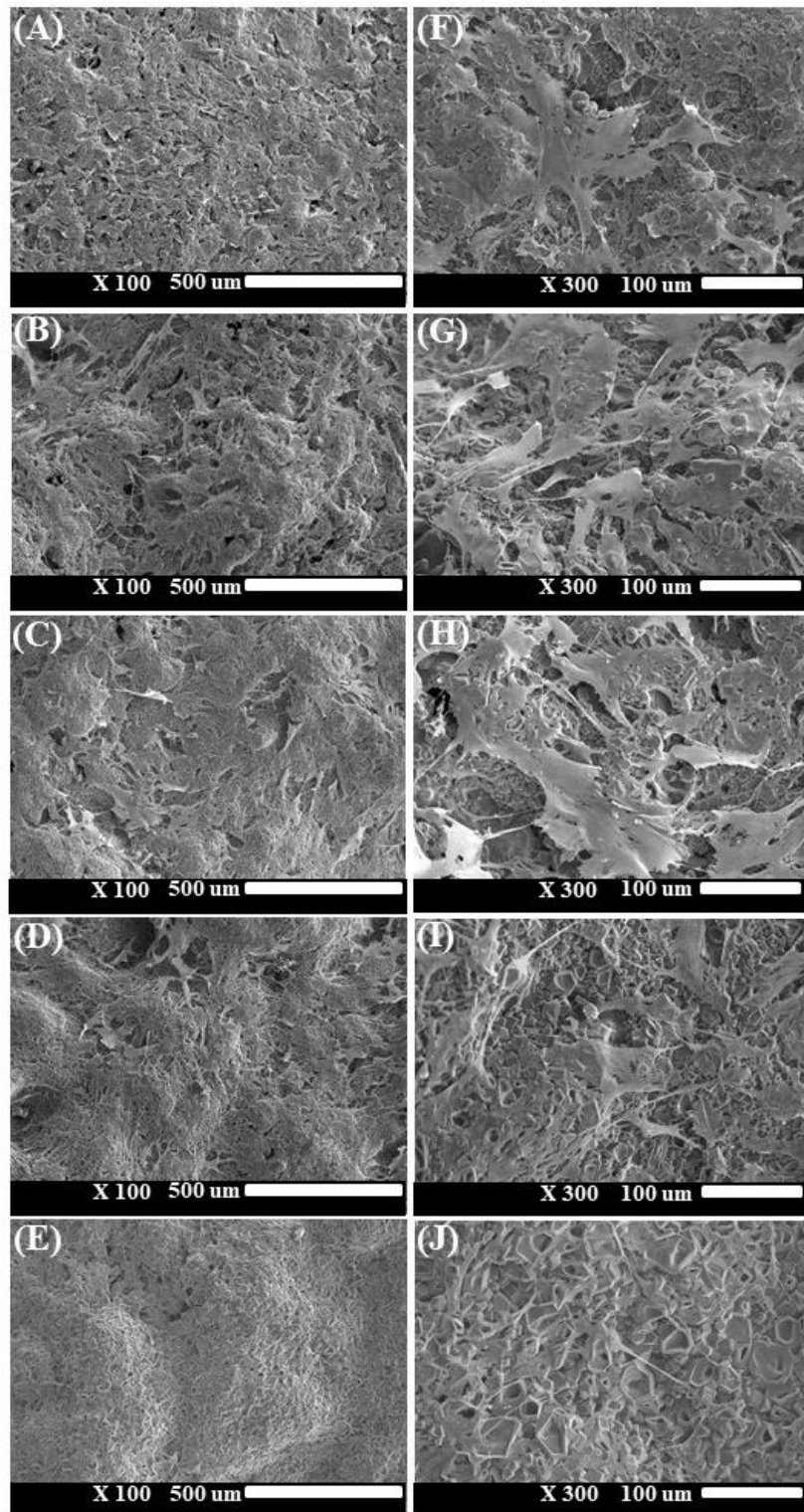




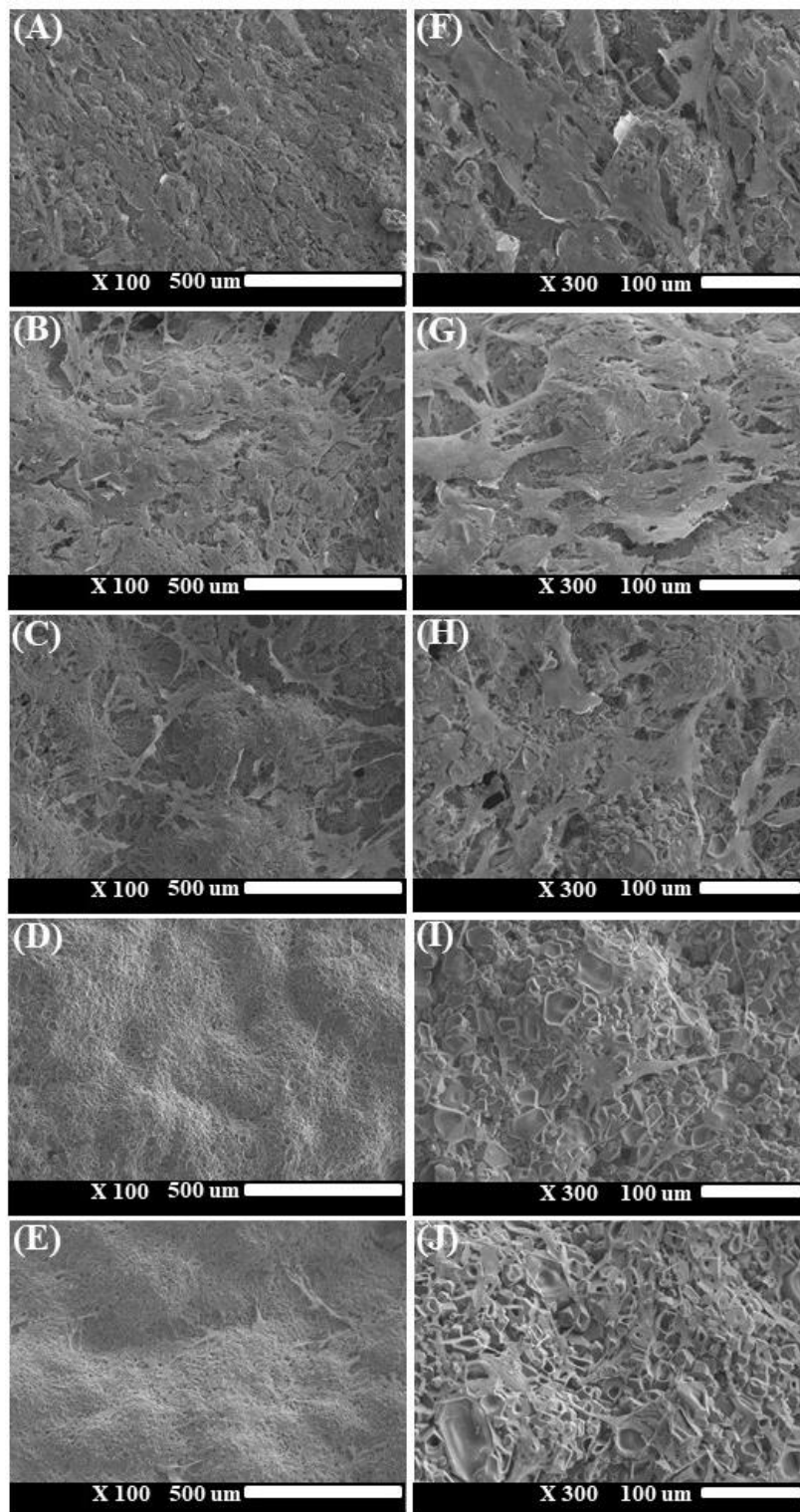
รูปที่ 4.2 สัณฐานวิทยาของ TCP-E01 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E01, (B, G) TCP-6%E01, (C, H) TCP-8%E01, (D, I) TCP-10%E01 และ (E, J) TCP-12%E01 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



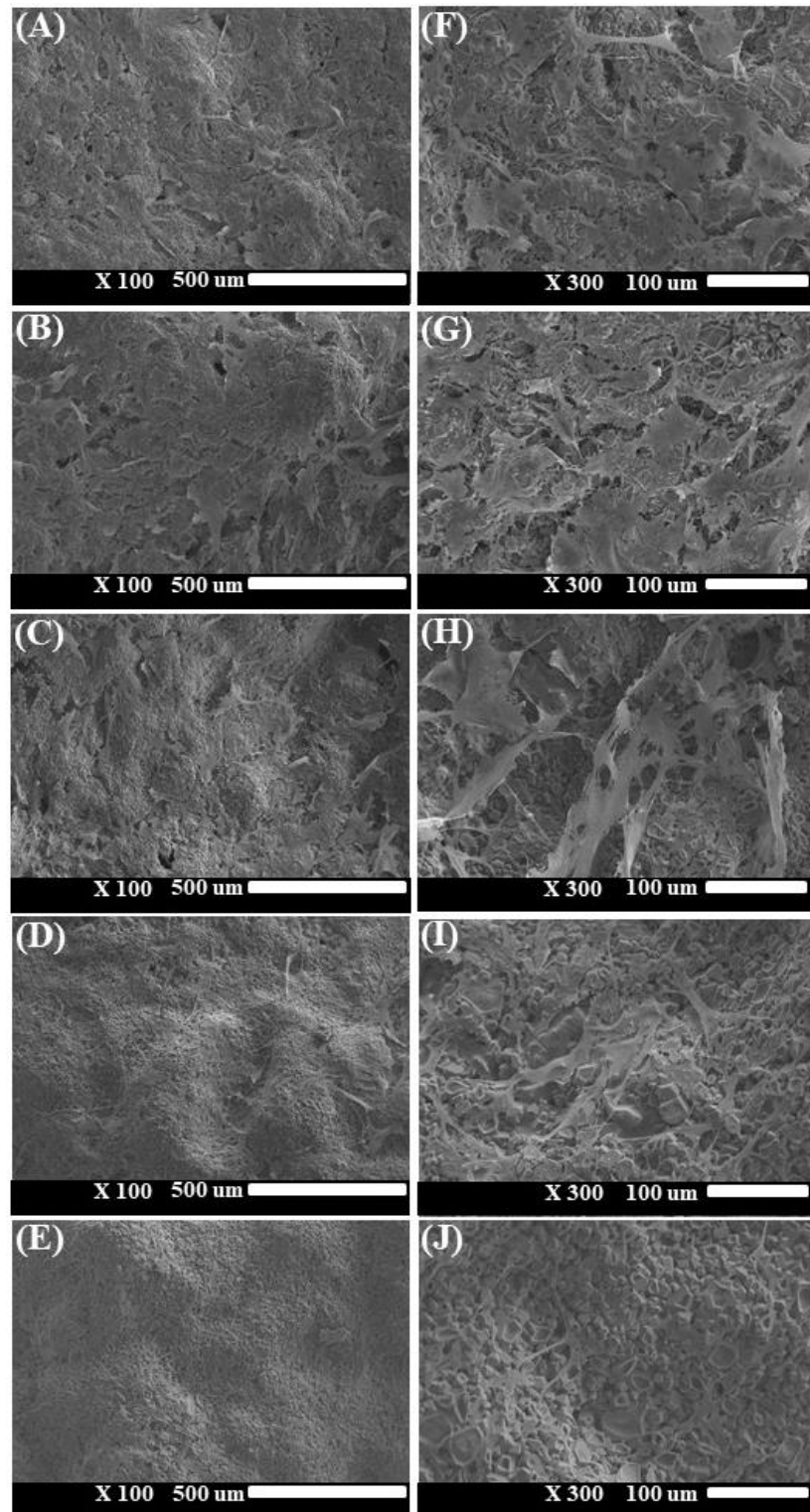
รูปที่ 4.3 สัณฐานวิทยาของ TCP-E02 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E02, (B, G) TCP-6%E02, (C, H) TCP-8%E02, (D, I) TCP-10%E02 และ (E, J) TCP-12%E02 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



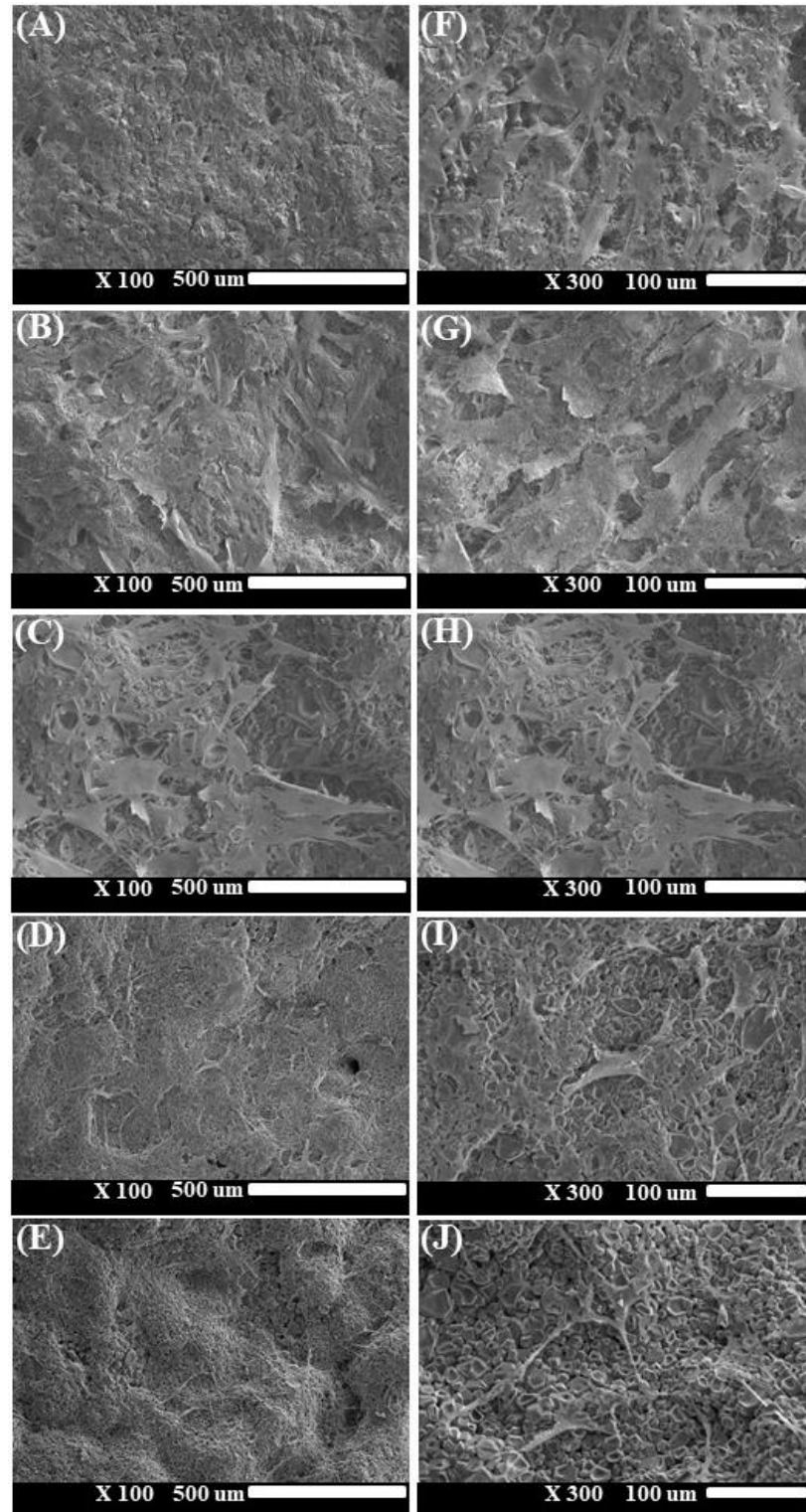
รูปที่ 4.4 สัณฐานวิทยาของ TCP-E03 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E03, (B, G) TCP-6%E03, (C, H) TCP-8%E03, (D, I) TCP-10%E03 และ (E, J) TCP-12%E03 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



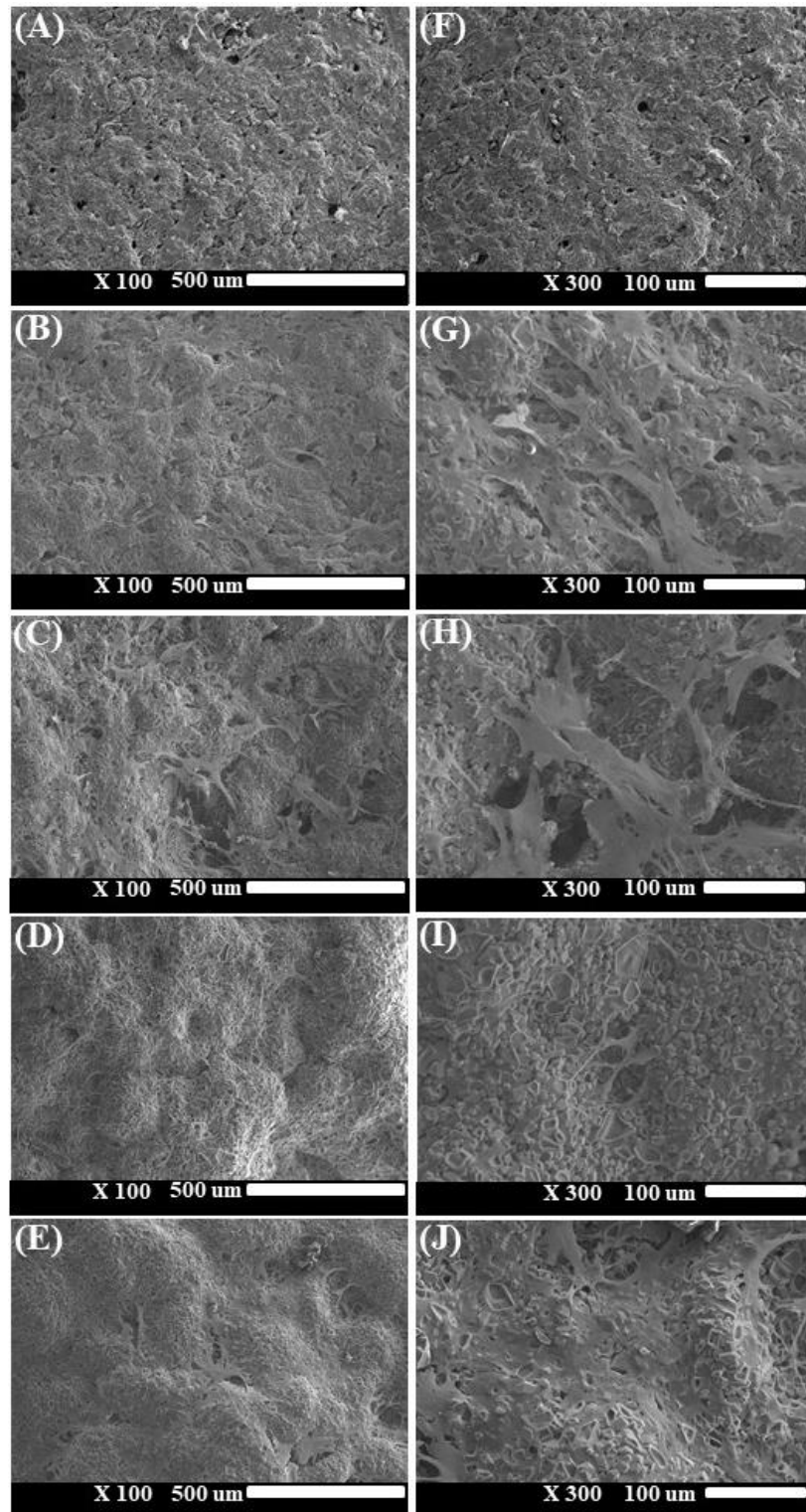
รูปที่ 4.5 สัณฐานวิทยาของ TCP-E04 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E04, (B, G) TCP-6%E04, (C, H) TCP-8%E04, (D, I) TCP-10%E04 และ (E, J) TCP-12%E04 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



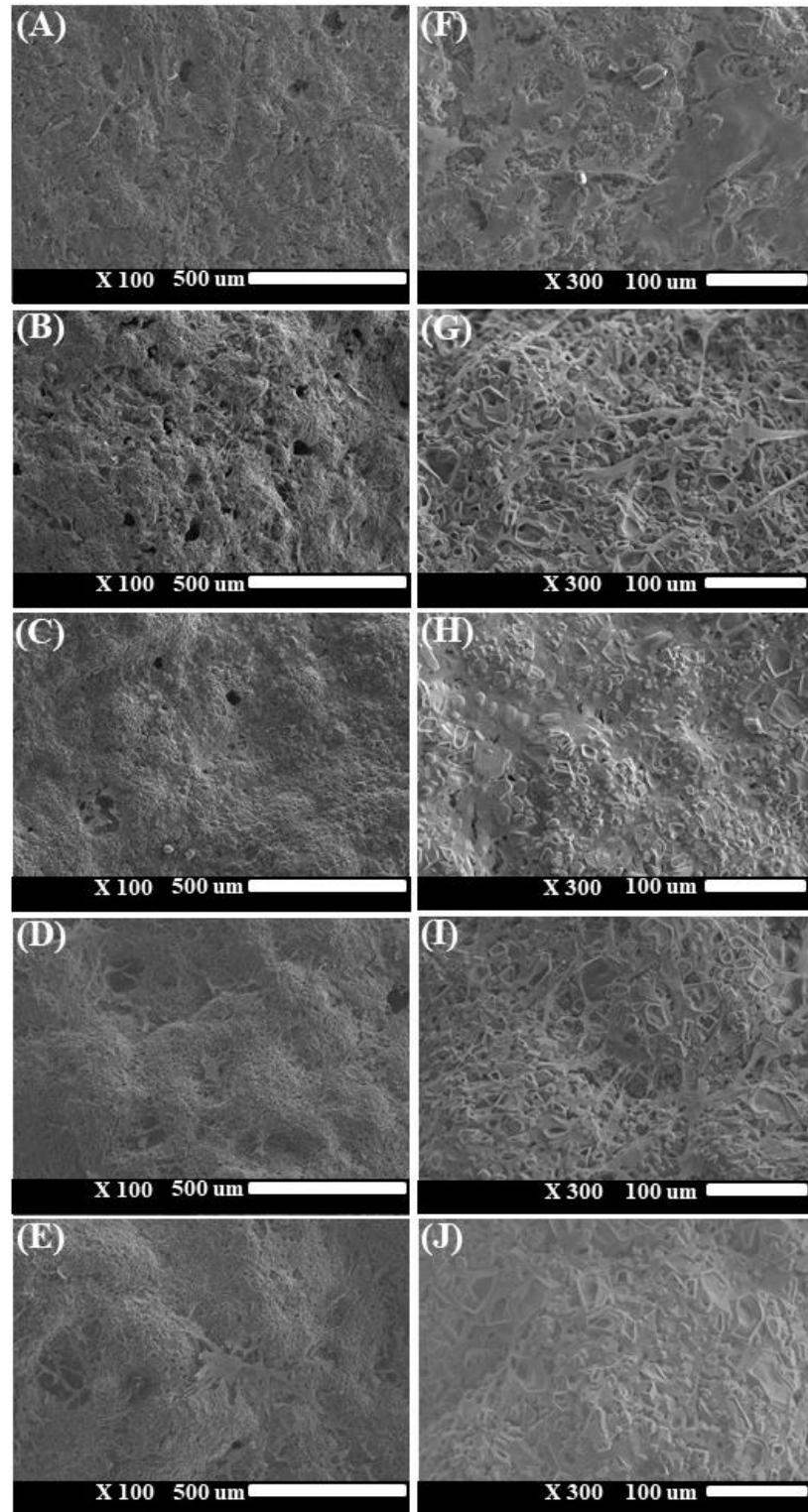
รูปที่ 4.6 สัณฐานวิทยาของ TCP-E05 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E05, (B, G) TCP-6%E05, (C, H) TCP-8%E05, (D, I) TCP-10%E05 และ (E, J) TCP-12%E05 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



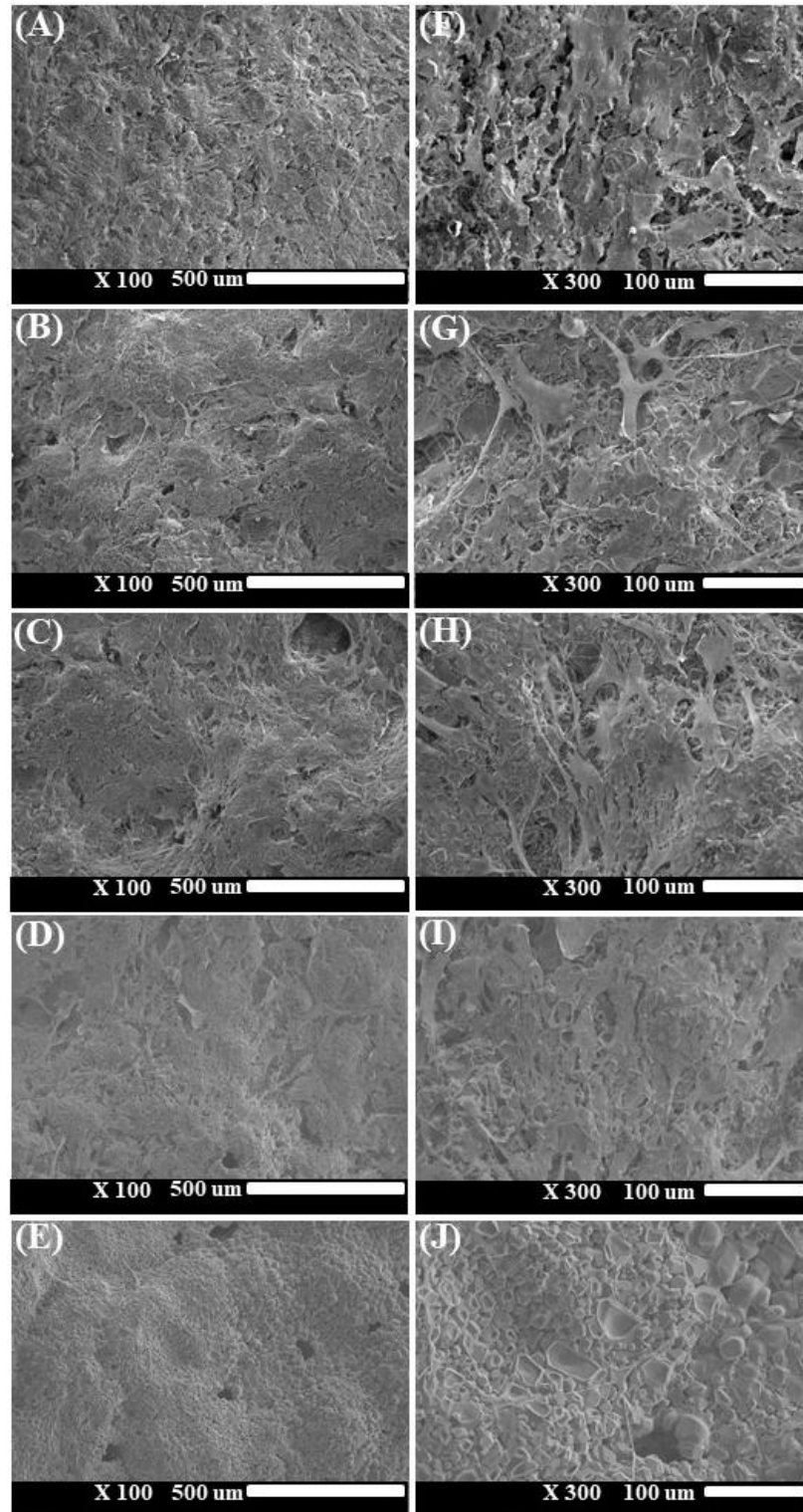
รูปที่ 4.7 สัณฐานวิทยาของ TCP-E06 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E06, (B, G) TCP-6%E06, (C, H) TCP-8%E06, (D, I) TCP-10%E06 และ (E, J) TCP-12%E06 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



รูปที่ 4.8 สัณฐานวิทยาของ TCP-E07 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E07, (B, G) TCP-6%E07, (C, H) TCP-8%E07, (D, I) TCP-10%E07 และ (E, J) TCP-12%E07 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



รูปที่ 4.9 สัณฐานวิทยาของ TCP-E08 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E08, (B, G) TCP-6%E08, (C, H) TCP-8%E08, (D, I) TCP-10%E08 และ (E, J) TCP-12%E08 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ



รูปที่ 4.10 สัณฐานวิทยาของ TCP-E09 หลังจากเลี้ยงเซลล์กระดูกบนพื้นผิวเป็นเวลา 7 วันของสูตร (A, F) TCP-4%E09, (B, G) TCP-6%E09, (C, H) TCP-8%E09, (D, I) TCP-10%E09 และ (E, J) TCP-12%E09 ที่กำลังขยาย x 5000 และ x10000 ตามลำดับ

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เสนอแนวทางการเตรียมโครงสร้างเล็ยงเซลล์คอมโพสิตเซรามิกแบบมีรูพรุนของเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต (B-TCP) และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ ($Zn_xNi_{1-x}Fe_2O_4$) เพื่อประยุกต์ใช้เป็นวัสดุทดแทนกระดูกในอนาคต โดยใช้เทคนิคการขึ้นรูปอย่างง่ายรวมกับการซินเทอริงแบบปราศจากแรงดัน สารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาการตกตะกอนโดยใช้เปลือกไข่เป็นแหล่งวัตถุดิบของแคลเซียม จากการตรวจสอบโครงสร้างผลึกของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตที่สังเคราะห์ขึ้นพบว่า สำหรับการสังเคราะห์ซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์นั้นสามารถเตรียมได้จากปฏิกิริยาการตกตะกอนโดยมีสูตรความสัมพันธ์ที่แตกต่างกันตามสัดส่วนของซิงก์และนิกเกิล จากการตรวจสอบโครงสร้างผลึกจะพบว่าซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ทุกสูตรมีลักษณะโครงสร้างเหมือนกัน แต่จะมีการเลื่อนของระนาบที่แตกต่างกันเล็กน้อย

จากการตรวจสอบสัณฐานวิทยาของโครงสร้างเล็ยงเซลล์แบบรูพรุนของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์พบว่าเมื่อสัดส่วนผสมของซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ ในเมตริกเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ขนาดเกรนมีแนวโน้มใหญ่ขึ้น นอกจากนี้ลักษณะโครงสร้างมีความพรุนมากขึ้นและมีการเชื่อมโยงกันดีระหว่างรูพรุน ซึ่งลักษณะรูพรุนที่เกิดขึ้นภายในโครงสร้างจะเป็นช่องทางในการส่งผ่านส่วนประกอบอินทรีย์ต่างๆ และเพิ่มพื้นผิวสัมผัสในการยึดเกาะของเซลล์ให้สูงขึ้น ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตที่ดีของเซลล์สำหรับการศึกษาการตอบสนองทางชีวภาพของเซลล์กระดูกต่อโครงสร้างเล็ยงเซลล์ที่เตรียมขึ้นได้เลือกใช้วิธี *Biological in vitro test using direct contact method with human cells* โดยพบว่า โครงสร้างเล็ยงเซลล์คอมโพสิตระหว่างเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต และซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์สูตร $Zn_{0.8}Ni_{0.2}Fe_2O_4$ มีการเจริญเติบโตของเซลล์กระดูกในปริมาณค่อนข้างเยอะในทุกสัดส่วนการผสม นอกจากนี้ยังมีการแผ่ตัวของเซลล์กระดูกไปในระนาบเดียวกับผิวชิ้นงานได้ดี มีการกระจายตัวของเซลล์กระดูกอย่างสม่ำเสมอบนพื้นผิวของชิ้นงานและแทรกซึมไปในช่องว่างได้ดี

รายการอ้างอิง

1. Information on <http://www.g30up.com/forums/viewtopic.php?f=6&t=2405>
2. C.J. Koh, A. Atala, "Tissue engineering stem cells and cloning: Opportunities for regenerative medicine," *J Am Soc Nephro*, vol. 15, pp. 1113-1125, 2004.
3. S.V. Dorozhkin, "Nanosized and nanocrystalline calcium ortho- phosphates," *Acta Biomaterialia*, vol. 6, pp. 715–734, 2010.
4. Carlos F.L. Santos, Abílio P. Silva, Luís Lopes, Inês Pires, Ilidio J. Correia, " Design and production of sintered β -tricalcium phosphate 3D scaffolds for bone tissue regeneration," *Materials Science and Engineering C*, vol. 32, pp. 1293–1298, 2012.
5. W. Yu, X. Wang, J. Zhao, Q. Tang, M. Wang, X. Ning, "Preparation and mechanical properties of reinforced hydroxyapatite bone cement with nano-ZrO₂," *Ceramics International*, vol. 41, pp. 10600–10606, 2015.
6. H.J. Park, O.J. Lee, M.C. Lee, B.M. Moon, H.W. Ju, J.m. Lee, J.H. Kim, D.W. Kim, C.H. Park, "Fabrication of 3D porous silk scaffolds by particulate (salt/sucrose) leaching for bone tissue reconstruction," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 78, pp. 215-223, 2015
7. K.A. Gross, L. Komarovska and A. Viksna, "Efficient zinc incorporation in hydroxyapatite through crystallization of an amorphous phase could extend the properties of zinc apatites," *Journal of The Australian Ceramic Society*, Vol. 49, pp. 129– 135, 2013.
8. C.K. Keil, F. Scholz, T. Gedrange, T. Gredes, "Comparative study of biphasic calcium phosphate with beta-tricalcium phosphate in rat cranial defects-A molecular-biological and histological study," *Annals of Anatomy*, Vol. 199, pp. 79-84, 2015.
9. B. Antebi, X. Cheng, J. N. Harris, L. B. Gower, X.-D. Chen, and J. Ling, "Biomimetic collagen-hydroxyapatite composite fabricated via a novel perfusion-flow mineralization technique," *Tissue Engineering Part C: Methods*, vol. 19, no. 7, pp. 487–496, 2013.
10. M. Weszl, G. Skaliczki, A. Cselenyák et al., "Freeze-dried human serum albumin improves the adherence and proliferation of mesenchymal stem cells on

- mineralized human bone allografts," *Journal of Orthopaedic Research*, vol. 30, no. 3, pp. 489–496, 2012.
11. S. Rungsiyanont, N. Dhanesuan, S. Swasdison, and S. Kasugai, "Evaluation of biomimetic scaffold of gelatin-hydroxyapatite crosslink as a novel scaffold for tissue engineering: biocompatibility evaluation with human PDL fibroblasts, human mesenchymal stromal cells, and primary bone cells," *Journal of Biomaterials Applications*, vol. 27, no. 1, pp. 47–54, 2012.
 12. N. Barbani, G. D. Guerra, C. Cristallini et al., "Hydroxyapatite/gelatin/gellan sponges as nanocomposite scaffolds for bone reconstruction," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 23, no. 1, pp. 51–61, 2012.
 13. B.-S. Kim, J. S. Kim, Y. S. Chung et al., "Growth and osteogenic differentiation of alveolar human bone marrow-derived mesenchymal stem cells on chitosan/hydroxyapatite composite fabric," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 101, no. 6, pp. 1550–1558, 2013.
 14. J. Chen, Q. Yu, G. Zhang, S. Yang, J. Wu, and Q. Zhang, "Preparation and biocompatibility of nanohybrid scaffolds by in situ homogeneous formation of nano hydroxyapatite from biopolymer polyelectrolyte complex for bone repair applications," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 93, pp. 100–107, 2012.
 15. M. Wang, X. Cheng, W. Zhu, B. Holmes, M. Keidar, and L.G. Zhang, "Design of biomimetic and bioactive cold plasma modified nanostructured scaffolds for enhanced osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells," *Tissue Engineering Part A*, vol. 20, no. 5-6, pp. 1060–1071, 2014.
 16. A. H. Ambre, D. R. Katti, and K. S. Katti, "Nanoclays mediate stem cell differentiation and mineralized ECM formation on biopolymer scaffolds," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 101, no. 9, pp. 2644–2660, 2013.
 17. S. Bhumiratana, W. L. Grayson, A. Castaneda et al., "Nucleation and growth of mineralized bone matrix on silk-hydroxyapatite composite scaffolds," *Biomaterials*, vol. 32, no. 11, pp. 2812–2820, 2011.
 18. Y. Xia, P. Y. Zhou, X. S. Cheng et al., "Selective laser sintering fabrication of nano-hydroxyapatite/poly- ϵ -caprolactone scaffolds for bone tissue engineering applications," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 8, pp. 4197–4213, 2013.

19. Z. Lu, S. I. Roohani-Esfahani, G. Wang, and H. Zreiqat, "Bone biomimetic microenvironment induces osteogenic differentiation of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 8, no. 4, pp. 507–515, 2012.
20. L. Nie, D. Chen, J. Suo et al., "Physicochemical characterization and biocompatibility in vitro of biphasic calcium phosphate/polyvinyl alcohol scaffolds prepared by freeze-drying method for bone tissue engineering applications," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 100, pp. 169–176, 2012.
21. K. Salma-Ancane, L. Stipniece, A. Putnins, L. Berzina-Cimdina, "Development of Mg-containing porous β -tricalcium phosphate scaffolds for bone repair," *Ceramics International*, vol. 41, pp. 4996–5004, 2015.
22. S. Panseri, C. Cunha, T. D. Alessandro, M. Sandri, A. Russo, G. Giavaresi, M. Marcacci, C.T. Hung and A. Tampieri: 'Magnetic hydroxyapatite bone substitutes to enhance tissue regeneration: evaluation in vitro using osteoblast-like cells and in vivo in a bone defect', *PLoS One*, 2012, doi:10.1371/journal.pone.0038710.
23. M.A.F. Afzal, P. Kesarwani, K.M. Reddy, S. Kalmodia, B. Basu, K. Balani, "Functionally graded hydroxyapatite-alumina-zirconia biocomposite: Synergy of toughness and biocompatibility", *Materials Science & Engineering C*, Vol. 32, pp. 1164-1173, 2012.

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ – นามสกุล

(ภาษาไทย) ดร. ปิยะพงษ์ ปานแก้ว

(ภาษาอังกฤษ) Dr. Piyapong Pankaew

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน

3-1020-02911-13-8

3. ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์ประจำสาขาวิชาวัสดุศาสตร์อุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

โทรศัพท์ 087 893 4457 E-mail: piyapong.pa@rmutp.ac.th

5. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ฟิสิกส์)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วศ.ม. (วิศวกรรมอุตสาหการ)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปร.ด. (ฟิสิกส์)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิกวการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Bioceramics, Nanomaterials, Composite Materials, Material Fabrication and
Material Characterization

7. ทูนิวิจัย

1. เรื่อง การพัฒนาวัสดุทดแทนกระดูกจากการปลูกผลึกนาโนไฮดรอกซีอะพาไทต์บน
เส้นไหมไฟโบรอิน

แหล่งทุนสนับสนุน ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๕๗

2. เรื่อง การพัฒนาโครงสร้างสองชั้นระหว่างคอมโพสิตไฮดรอกซีอะพาไทต์-อลูมินาและ
เซอริโคเนียเพื่อประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

แหล่งทุนสนับสนุน ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๕๘

3. เรื่อง รูปแบบของฟันในประเทศไทยอันเนื่องมาจากอิทธิพลของพายุหมุนเขตร้อน”

แหล่งทุนสนับสนุน ทุนงบประมาณแผ่นดิน ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๕๘

4. เรื่อง การเตรียมและศึกษาสมบัติทางโครงสร้างและแม่เหล็กของอนุภาคคอมโพสิต ระดับนาโน
เมตรของไฮดรอกซีอะพาไทต์และซิงก์เฟอไรต์เพื่อประยุกต์ใช้ในการรักษามะเร็งในอนาคต

แหล่งทุนสนับสนุน งบประมาณรายจ่าย ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๕๙

5. เรื่อง การเตรียมการพัฒนาโครงร่างเลี้ยงเซลล์แบบรูปวงของสารประกอบเบต้าไตรแคลเซียมฟอสเฟต ซิงก์-นิกเกิลเฟอไรท์ และเซอโคเนีย สำหรับประยุกต์ในงานวิศวกรรมเนื้อเยื่อกระดูก แหล่งทุนสนับสนุน งบประมาณรายจ่าย ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๐
6. เรื่อง การพัฒนาแผ่นเส้นใยอิเล็กทรอนิกส์บนจากโปรตีนไหมซีรีซินสารสกัดรังจืดและสารสกัดหญ้าหางม้าสำหรับประยุกต์เป็นแผ่นปิดแผล แหล่งทุนสนับสนุน งบประมาณรายจ่าย ปีงบประมาณ พ.ศ.๒๕๖๐

